

**PREPARASI FITOSOM EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura L.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

**PREPARATION OF PHYTOSOME OF KERSEN LEAVES (*Muntingia
calabura L.*) ETHANOL EXTRACT AS ANTIOXIDANT**

Nur Illiyyin Akib^{1*}, Nabila Saraswati Hendra¹, Andi Eka Purnama Putri¹, Fery Indradewi
Armadhani¹, Andi Nafisah Tendri Adjeng¹, Rifa'atul Mahmudah¹

1. Departement of Pharmacy,
Faculty of Pharmacy,
Universitas Halu Oleo,
Kendari.

*Corresponding author
Nur Illiyyin Akib

Email:
nurilliyyinakib@gmail.com

ABSTRAK

Kersen (*Muntingia calabura L.*) mengandung flavonoid yang berpotensi antioksidan. Namun sifat hidrofiliknya menyebabkan penetrasinya buruk sehingga bioavailabilitasnya rendah. Telah dilakukan penelitian preparasi ekstrak etanol daun kersen dalam pembawa vesikel etosom yang bertujuan memperoleh formula yang optimal. Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan etanol. Delipidasi ekstrak dilakukan dengan metode cair-cair menggunakan n-heksan dan etanol. Karakterisasi ekstrak meliputi organoleptik, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air, kadar abu, kadar abu yang tidak larut dalam asam, dan sisa pelarut. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan metode KLT. Uji aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan metode DPPH. Preparasi fitosom dilakukan dengan metode penguapan pelarut dan hidrasi lapis tipis menggunakan rasio ekstrak dan fosfatidilkolin 1:1 pada konsentrasi 0,5% (A); 1% (B); dan 1,5% (C). Karakterisasi meliputi morfologi vesikel menggunakan mikroskop optik, distribusi ukuran vesikel menggunakan PSA, dan efisiensi penjerapan menggunakan spektrofotometer pada λ_{maks} 281 nm. Karakteristik ekstrak yang diperoleh yaitu berwarna hijau tua; kental; aroma khas; kadar sari larut etanol 70,91%; kadar sari larut air 32,5%; kadar air 1,19%; kadar abu 1,25%; kadar abu tidak larut asam 0,49%; dan sisa pelarut 0. Identifikasi flavonoid menunjukkan hasil positif. Ekstrak memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 62,71 μ g/mL. Bentuk yang dihasilkan adalah vesikel besar lapis tunggal (LUV). Diameter yang diperoleh adalah 445,7 nm (A); 420,7 nm (B); dan 419,6 nm (C). Efisiensi penjerapan yang dihasilkan adalah 5,83% (A); 47,575% (B); dan 68,81% (C). Disimpulkan bahwa formula yang optimal adalah formula C (fosfatidilkolin 1,5% dan ekstrak 1,5%).

Kata Kunci: Sistem penghantaran obat, Vesikel, Fitosom

ABSTRACT

Kersen (*Muntingia calabura L.*) contains flavonoids that have the potential as antioxidants. However, its hydrophilic characteristics cause poor penetration so that its bioavailability is low. Research had been carried out on the preparation of ethanol extract of cherry leaves in ethosomal vesicle carriers. This study aimed to obtain the optimal phytosome suspension formula. Sample extraction was carried out by maceration method using ethanol as a solvent and was delipidated by liquid-liquid method with n-hexane. The characterization of the extract included organoleptic, water-soluble extract content, ethanol soluble extract content, water content, ash content, acid insoluble ash content, and residual solvent. flavonoid contents were carried out by the TLC method and antioxidant activity was determined using DPPH method. Phytosome preparation was prepared by solvent evaporation and thin film hydration with ratio of extract and phosphatidylcholine 1:1 with concentration of 0.5% (A); 1% (B); and 1.5% (C). The characterization included observing morphology of vesicles using optical microscope, determining the size distribution of vesicles using PSA, and calculating the sorption efficiency using a spectrophotometer at max 281 nm. The characteristics of extract were dark green; thick; distinctive aroma; ethanol soluble content were 70.91%; water soluble content were 32.5%; water content were 1.19%; ash content were 1.25%;

acid insoluble ash content were 0.49%; and the remaining solvent was 0. The identification of flavonoids showed positive results. The extract has flavonoids and strong antioxidant activity with 62.71 g/mL for IC₅₀. The shape is single layer large vesicle (LUV), diameter was 445.7 nm (A); 420.7 nm (B); and 419.6 nm (C). Vesicle entrapment efficiency was 5.83% (A); 47.575% (B); and 68.81% (C). It can be concluded that the optimal phytosome suspension formula is C with 1.5% phosphatidylcholine and 1.5% of extract.

Keywords: Drug delivery system, Vesicle, Phytosome

1. PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mengatasi efek-efek kerusakan pada kulit manusia yang diakibatkan oleh radikal bebas yang merupakan faktor utama pada proses penuaan (*aging*) dan kerusakan jaringan kulit (Solichin, 2014).

Pemaparan sinar matahari yang berlebihan pada kulit mengakibatkan terjadinya reaksi fisiologis kulit. *Aging* kulit sebagian besar disebabkan oleh radiasi sinar matahari. Sinar matahari juga membentuk radikal bebas pada kulit (Titta et al., 2015). Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik maka antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih. Salah satu senyawa kimia yang berfungsi sebagai antioksidan adalah flavanoid. yang mempunyai aktivitas biologis dalam menghambat berbagai reaksi oksidasi, serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil (Kuntorini et al., 2013).

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) berpotensi sebagai antioksidan. Ekstrak etanolnya mengandung metabolit sekunder saponin, flavonoid, dan tannin (Hasanah et al., 2016). Namun bahan aktif dalam ekstrak haruslah mampu melewati membran sel ataupun jaringan target yang akan dituju sehingga memberikan efek. Flavonoid memiliki polaritas yang tinggi. Bahan aktif yang bersifat hidrofilik memiliki bioavailabilitas yang rendah karena sulit menembus membran sel (Deck et al., 2012). Oleh karena itu dibutuhkan teknologi untuk meningkatkan bioavailabilitas flavonoid misalnya fitosom.

Fitosom merupakan suatu kompleks yang tersusun dari fitokonstituen dengan fosfolipid membentuk suatu gelembung yang sifatnya menyerupai membran sel. Bagian kepala fosfolipid bersifat polar akan berikatan dengan fitokonstituen. Sedangkan bagian ekornya bersifat nonpolar. Fosfolipid yang sering digunakan adalah fosfatidilkolin (Azzahra & Musfiroh, 2018). Penelitian ini berupa preparasi ekstrak etanol daun kersen dalam pembawa vesikular fitosom guna meningkatkan absorpsi dan bioavailabilitas flavonoid sebagai antioksidan di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan memperoleh formula dan metode yang tepat dalam preparasi ekstrak etanol daun kersen dalam pembawa fitosom.

2. METODE

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi, daun kersen (*Muntingia calabura* L), etanol 96%, fosfatidilkolin (Sigma Aldrich[®]), asam askorbat, radikal DPPH (Sigma Aldrich[®]), serta air suling. Alat yang digunakan meliputi *chamber*, corong Buchner, kertas saring, *water bath*, timbangan analitik (Precisa[®]), oven (Gallenkamp Civilab-Australia), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), *rotary vacuum evaporator* (Rotavapor[®] R-300), tube, *hot plate* (Stuart[®]), *hot plate stirrer*, timbangan analitik (Precisa XB 220A[®]), sentrifugator (BoecoS-8[®]), *particle size analyzer*

(Horiba SZ-100[®]), mikroskop optik (Leica[®]), vial, ultrasonikator (Kudos[®]) serta alat-alat gelas (Pyrex[®]).

Penyiapan dan Ekstraksi Sampel

Daun kersen diperoleh dari Kelurahan Andounohu, Kecamatan Poasia, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Preparasi sampel meliputi sortasi basah, pencucian dan pengeringan, dan pengecilan ukuran simplisia membentuk serbuk kering.

Serbuk kering dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 10 L selama 5 x 24 jam. Maserat dievaporasi (suhu 40°C; 40 rpm) hingga diperoleh ekstrak cair dan dipekatkan dengan pemanasan (suhu 50°C). Ekstrak di-delipidasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan n-heksan (250 ml) dan etanol (250 ml). Lalu dihitung rendemennya.

Ekstrak terdelipidasi (selanjutnya disebut ekstrak) dikarakterisasi meliputi organoleptik, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air, kadar abu, kadar abu yang tidak larut dalam asam, dan parameter sisa pelarut.

Pengujian Kualitatif Flavonoid Ekstrak

Pengujian dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak etanol daun kersen dilarutkan dalam etanol 96% kemudian ditotolkan pada lempeng KLT. Kemudian dielusi dengan n-heksan: etil asetat dengan perbandingan (2:8). Selanjutnya diamati di bawah sinar UV (254 nm dan 366 nm) dan dihitung nilai R_f nodanya (Wulandari et al., 2012). Kemudian disemprot dengan pereaksi spesifik flavonoid yaitu. AlCl₃ yang akan memberikan warna kuning (Dahlia et al., 2016).

Pengujian Kuantitatif Flavonoid Ekstrak

Pengujian dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan baku standar kuarsetin (2, 4, 6, 8, dan 10 ppm) yang diinkubasi (30 menit; suhu kamar), dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 440 nm (Dahlia et al., 2016). Hasil pengukuran didapatkan persamaan fungsi $y = ax - b$ sehingga diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kersen.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik maka antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih (Kuntorini et al., 2013).

Pengujian dilakukan dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH (10, 50, 100, 150, dan 200 ppm yang divortex dan diinkubasi (suhu 37°C; ruang gelap; 30 menit), dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Handayani et al., 2014). Pembandingnya adalah asam askorbat (2, 4, 6, 8, dan 10 ppm). Kemudian dihitung persentase hambatan 50% (IC₅₀) terhadap radikal DPPH.

Preparasi Fitosom

Suspensi fitosom ekstrak etanol daun kersen dipreparasi dengan metode penguapan pelarut dan hidrasi lapis tipis. Suspensi dibuat dalam bobot 50 gram dengan perbandingan kadar ekstrak etanol daun kersen dan fosfatidilkolin 1:1 (Kalita et al., 2013). Formula dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula Fitosom Ekstrak Etanol Daun Kersen dengan Rasio Perbandingan Fosfatidilkolin dan Ekstrak

Formula	Ekstrak (%w/v)	Fosfatidilkolin (%w/v)	Etanol 96% (%w/w)
A	0,5	0,5	Ad 100
B	1	1	Ad 100
C	1,5	1,5	Ad 100

Fosfatidilkolin disuspensikan ke dalam 10 mL air suling di atas *hot plate* (40°C) dan dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% menghasilkan campuran (a). Ekstrak etanol daun kersen dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% menghasilkan campuran (b). Campuran (b) dimasukkan dalam campuran (a) dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* (700 rpm; 5 menit) membentuk campuran (c). Etanol 96% ditambahkan sedikit demi sedikit dan pengadukan dilanjutkan (5 menit; 700 rpm). Dilanjutkan ultrasonikasi (30 menit) dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* (45 rpm; 40 ± 2°C) hingga diperoleh film lapis tipis. Lapisan tipis didinginkan dan disimpan pada desikator semalam lalu dihidrasi terhadap dengan 20 mL air suling menggunakan alat *rotary evaporator* (90 rpm; 45°C; 20 menit). Suspensi yang diperoleh dipindahkan ke dalam vial (Ayuhastuti et al., 2017).

Karakterisasi Fitosom

Penentuan Efisiensi Penjerapan Vesikel

Penentuan dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis Larutan ekstrak daun kersen 10 ppm (dalam etanol) diukur absorbansinya pada panjang gelombang 200-500 nm. Suspensi fitosom disentrifugasi (6.000 rpm; 1 jam). Supernatan diambil 1 mL dicukupkan volumenya dengan etanol 96% 100 mL. Lalu diambil 1 mL dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan etanol 96%. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.

Nilai persentase ekstrak daun kersen yang terjerap dapat dihitung:

$$EE = \frac{(Q_t - Q_s)}{Q_t} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

EE adalah efisiensi penjerapan (*Entrapment Efficiency*), Q_t adalah jumlah ekstrak yang ditambahkan dan Q_s adalah jumlah ekstrak yang terdeteksi di supernatan (tidak terjerap) (Tahir et al., 2016).

Penentuan Ukuran dan Distribusi Ukuran Vesikel

Penentuan dilakukan dengan metode hamburan cahaya dinamis (*dynamic light scattering*) menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) pada suhu 25°C (Rasaie et al., 2014).

Pengamatan Morfologi Vesikel

Pengamatan dilakukan dengan metode mikroskopik. Satu tetes suspensi fitosom diletakkan pada permukaan kaca objek lalu diamati dengan perbesaran 1000 kali.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan dan Ekstraksi Sampel

Pengambilan sampel yang dilakukan pada pagi hari agar kandungan metabolit sekundernya lebih optimum karena tidak dalam keadaan berfotosintesis. Daun yang diambil adalah daun tua karena mengandung flavonoid lebih banyak dibandingkan daun muda (Kuntorini et al., 2013). Sampel dikeringkan untuk mengurangi kadar air yang dapat menjadi media pertumbuhan mikroba (Prasetyo & Inorih, 2013). Pengeringan dilakukan dengan sinar matahari. Sampel ditutup dengan

kain hitam untuk menjaga metabolit sekunder dari kerusakan dan mempercepat proses pengeringan (Utomo et al., 2009). Sampel kering dihaluskan untuk memperkecil ukuran sampel guna memperbesar luas permukaan sehingga memaksimalkan proses ekstraksi.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut pada suhu ruang dan diaduk beberapa kali (Ditjen POM, 2000). Pelarut yang digunakan etanol 96% karena sifat toksiknya lebih rendah daripada metanol dan bersifat semipolar yang mampu menarik lebih banyak senyawa polar dan non polar dari sampel. Maserat yang diperoleh selanjutnya di-delipidasi yaitu menghilangkan senyawa-senyawa lain yang tidak memiliki efek farmakologi misalnya lipid, klorofil, dan resin (*zat ballast*). Delipidasi ini bertujuan memperoleh ekstrak dengan kadar bahan aktif yang lebih murni dibanding ekstrak kasarnya. Karakterisasi ekstrak merupakan upaya untuk menjamin bahwa ekstrak tersebut memiliki parameter yang konstan (Depkes RI, 2000).

Tabel 2. Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Kersen

Parameter Spesifik	Hasil
Organoleptik	
Bentuk	Kental
Warna	Hijau Tua
Bau	Khas
Kadar sari larut etanol	70,91%
Kadar sari larut air	32,5%
Parameter Non Spesifik	
Kadar air	1,19%
Kadar abu	1,25%
Kadar abu yang tidak larut dalam asam	0,49%
Sisa pelarut	0%

Penentuan parameter organoleptik bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana. Penentuannya dilakukan dengan panca indera (Angelina et al., 2015). Penentuan kadar sari larut air dan etanol bertujuan mengetahui jumlah kandungan senyawa dalam ekstrak yang dapat tersari dalam pelarut air dan etanol. Nilai kadar sari juga menunjukkan senyawa kimia yang diduga memiliki efek farmakologi. Semakin tinggi persentase kadar sari maka semakin potensial ekstrak tersebut (Isnawati et al., 2013). Kadar sari larut air ekstrak telah memenuhi persyaratan yaitu $\geq 18,00\%$ dan untuk kadar sari larut etanol yaitu $\geq 6,30\%$ (Depkes, 2008).

Penentuan kadar air bertujuan menjaga kualitas mikrobiologi ekstrak karena dapat menghindari pertumbuhan mikroba dalam ekstrak (Angelina et al., 2015). Kadar air pada ekstrak adalah 1,19%, telah memenuhi persyaratan yaitu $\leq 10\%$ (Depkes, 2008). Kadar di atas 10% akan ditumbuhi jamur yang akan berdampak pada kesehatan (Isnawati et al., 2013). Penentuan kadar abu bertujuan memberikan gambaran kandungan mineral yang terbentuk selama proses ekstraksi. Kadar abu ekstrak telah memenuhi persyaratan yaitu $\leq 7\%$ (Depkes, 2008). Kadar abu di atas 7% menunjukkan bahwa ekstrak tercemar logam-logam mineral (Isnawati et al., 2013).

Penentuan kadar abu yang tidak larut asam bertujuan memberikan gambaran tingkat pengotoran oleh pasir dan lainnya. Kadar abu yang tidak larut dalam asam telah memenuhi persyaratan yaitu $\leq 2,60\%$ (Depkes, 2008). Penentuan parameter sisa pelarut bertujuan menjamin bahwa proses ekstraksi tidak meninggalkan sisa pelarut (Ditjen POM, 2000). Hasil yang diperoleh menunjukkan tidak ada sisa pelarut.

Pengujian Kualitatif Flavonoid Ekstrak

Pengujian kualitatif flavonoid bertujuan memastikan bahwa senyawa flavonoid benar terkandung dalam ekstrak. Pengujian dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Hasil pengujian menunjukkan bahwa kuersetin, ekstrak terdelipidasi, dan ekstrak tidak terdelipidasi mengandung senyawa flavonoid (golongan flavonol) yang dicirikan berupa bercak kuning. Kuersetin adalah senyawa katif golongan flavonoid. Ekstrak tidak terdelipidasi mengandung klorofil sebagai zat *ballast* dengan ciri khas bercak berpendar merah.

Pengujian Kuantitatif Flavonoid Ekstrak

Pengujian ini bertujuan mengetahui kuantitas senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak. Kadar flavonoid total dalam tanaman tergantung pada waktu pengambilan sampel, suhu lingkungan, cahaya, kelembaban, genotip sel, kandungan unsur hara pada tanah, dan lain-lain (Simbala, 2009).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari dan Lean (2016), kuersetin adalah flavonoid yang paling banyak terkandung dalam ekstrak daun kersen. Sehingga uji kadar flavonoid total dilakukan dengan pembandingan kuersetin. Kadar flavonoid total dalam suatu sampel dinyatakan sebagai QE (*quercetin Equivalent*) yaitu jumlah miligram kesetaraan kuersetin dalam 1 gram ekstrak (Puspitasari, 2017). Kadar flavonoid total yang diperoleh sebesar 12,97 mg/gram kuersetin.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Pengujian kuantitatif ini bertujuan mengetahui kekuatan antioksidan ekstrak dalam menangkal radikal bebas. Pengujian dilakukan dengan metode DPPH (2,2 difenil 1 pikrilhidrazil) (Molyneux, 2004) terhadap ekstrak dan dibandingkan dengan asam askorbat. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan metode DPPH adalah melihat perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH tersebut. Elektron tidak berpasangan pada radikal bebas DPPH akan memberikan warna ungu yang akan berubah menjadi kuning saat berpasangan dengan elektron pada sampel (Molyneux, 2004).

Perubahan warna memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Sehingga nilai aktivitas peredaman radikal bebas akan diketahui. Nilainya dinyatakan sebagai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) (Molyneux, 2004), yaitu konsentrasi yang menghilangkan 50% aktivitas DPPH. Semakin rendah nilai IC₅₀, maka semakin tinggi kemampuannya sebagai antioksidan (Lung & Destiani, 2018). Pengukuran dilakukan dengan panjang gelombang 517 nm. DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Ketika elektronnya berpasangan dengan elektron dari sampel, maka absorbansinya menurun (Dehpour et al., 2009).

Aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol daun kersen ditunjukkan dengan IC₅₀ 62,71 µg/mL sedangkan asam askorbat 4,43 µg/mL. Asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena memiliki empat gugus hidroksil yang bereaksi dengan anion hidroksil dengan mendonorkan satu elektron. Reaksi tersebut membentuk senyawa semihidroaskorbat yang tidak reaktif dan selanjutnya terjadi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang tidak stabil. Dehidroaskorbat terdegradasi untuk membentuk asam oksalat dan asam treonat (Lung & Destiani, 2018).

Potensi antioksidan daun kersen disebabkan oleh kandungan flavonoid yang menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas. Potensi antioksidan flavonoid dengan mendonorkan hidrogen kepada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal menjadi stabil dan senyawa flavonoid kehilangan atom hidrogen. Radikal antioksidan menjadi lebih stabil melalui proses resonansi dalam struktur cincin aromatikanya sehingga tidak akan terlihat dengan reaksi radikal yang lain (Lee et al., 2004).

Daun kersen adalah salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan Ekstrak etanol daun kersen mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar (Kuntorini et al., 2013). Guna mencapai bioavailabilitas optimal, produk bahan alam harus memiliki koefisien partisi lemak air untuk melintasi membran yang tersusun lipid. Flavonoid bersifat polar, namun sulit diabsorpsi karena ukurannya besar serta kelarutannya buruk dalam lipid. Akibatnya kemampuan flavonoid untuk menyebrangi membran terluar yang kaya akan lipid sangat terbatas. Bahan-bahan alam yang bersifat polar seperti flavonoid dapat diubah menjadi molekuler kompleks sehingga dapat bercampur dengan lipid yang disebut sebagai fitosom.

Fitosom merupakan suatu sistem penghantaran obat yang terdiri dari senyawa polifenol yang terdapat pada ekstrak tumbuhan yang terikat langsung pada fosfatidilkolin. Fitosom digunakan untuk menghantarkan zat aktif berpenetrasi melewati kulit. Penelitian ini merupakan preparasi ekstrak etanol daun kersen dalam pembawa vesikular fitosom dengan bahan-bahan penyusun fitosom yaitu fosfatidilkolin, etanol dan air. Suspensi fitosom dipreparasi dengan metode penguapan pelarut dan hidrasi lapis tipis. Fosfatidilkolin didispersikan dalam pelarut etanol dengan rasio perbandingan flavonoid dan fosfolipid ini berkisar antara 0,5-2 mol. Komposisi yang paling disukai adalah 1:1 antara flavonoid dan fosfolipid (Kalita et al., 2013).

Fosfatidilkolin merupakan fosfolipid yang umum terdapat pada membran sel sehingga vesikel yang dihasilkan akan menyerupai membran biologis. Fosfatidilkolin bersifat biokompatibel, stabil, dan aman (Tahir et al., 2016). Fosfatidilkolin berfungsi membentuk vesikel berupa lapisan lipid ganda. Penggunaan fosfatidilkolin tidak boleh terlalu tinggi atau rendah. Jika konsentrasinya terlalu tinggi maka vesikel yang dihasilkan rentan bocor. Sebaliknya jika terlalu rendah maka vesikel yang terbentuk hanya sedikit. Hal ini menurunkan kemampuannya menyerap bahan aktif.

Etanol selain digunakan sebagai pelarut dalam suspensi, juga berfungsi sebagai peningkat penetrasi ke dalam kulit. Selain itu etanol akan mempengaruhi vesikel yaitu menjadikan strukturnya kurang rapat sehingga memudahkan zat aktif masuk ke dalam lipid bilayer. Air juga dibutuhkan dalam proses preparasi vesikel fitosom. Menurut Kalita dkk., (2013) vesikel fitosom terbentuk ketika fosfatidilkolin terdispersi di dalam air maka fosfatidilkolin akan melekok untuk memperkecil sudut kontak dengan air. Kedua ujung fosfolipid bertemu dan membentuk ruang tertutup berbentuk bulat. Ketika ditambahkan alkohol, struktur vesikel menjadi lebih lunak, stabil, dan lebih mampu berpenetrasi ke dalam stratum korneum.

Sebelum proses sonikasi suspensi fitosom yang terbentuk berwarna kuning pudar dan berbau khas campuran ekstrak daun kersen dan etanol sedangkan setelah proses sonikasi suspensi fitosom yang terbentuk tampak lebih transparan Hal tersebut disebabkan ukuran vesikel yang terbentuk setelah proses sonikasi menjadi lebih kecil karena adanya energi getaran suara ultrasonik yang memecah struktur vesikel dan memisahkan vesikel-vesikel yang menempel sehingga suspensi fitosom yang terbentuk tampak lebih transparan (Gambar 1).



Gambar 1. Suspensi Fitosom (A) Perbandingan 0,5:0,5 (B) Perbandingan 1:1(C) Perbandingan 1,5:1,5

4. KARAKTERISASI FITOSOM

Penentuan Efisiensi Penjerapan Vesikel

Pengukuran efisiensi penjerapan atau *entrapment efficiency* (%EE) dilakukan untuk mengetahui kemampuan vesikel menjerap sejumlah obat. Nilai %EE adalah perbandingan konsentrasi obat yang terjerap dalam sistem pembawa terhadap jumlah obat yang ditambahkan. Nilai %EE diharapkan mendekati 100% artinya jumlah obat terjerap dalam vesikel semakin banyak.

Pengukuran nilai %EE dilakukan dengan sentrifugasi suspensi fitosom terlebih dahulu, hal tersebut menurut Bendas dan Mina (2007) digunakan untuk memisahkan vesikel fitosom yang mengandung obat dengan obat yang tidak terjerap pada vesikel atau obat bebas.

Tabel 3. Nilai %EE Fitosom Ekstrak Daun Kersen

Formula	Konsentrasi Penyusun Fitosom (Fosfatidilkolin : Flavonoid)	Efisiensi Penjerapan (%)
A	0,5% : 0,5%	5,83
B	1% : 1%	47,575
C	1,5% : 1,5%	68,806

Berdasarkan hasil penelitian formula C memiliki nilai %EE yang paling besar dibandingkan formula A dan B. Semakin besar rasio perbandingannya maka efisiensi penjerapannya pun makin besar. Pengaruh konsentrasi fosfatidilkolin terhadap nilai %EE terlihat pada hasil yang diperoleh pada metode dan konsentrasi penyusun fitosom lainnya yang sama, konsentrasi 1,5% fosfatidilkolin memberikan nilai yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 0,5% dan 1%. Hal ini disebabkan semakin banyaknya vesikel yang terbentuk maka kemampuannya menjerap zat aktif semakin besar pula (Tabel 3).

Hal ini sejalan dengan Bendas dan Mina (2007) dan Kumar dkk. (2016) yang menyatakan bahwa fosfatidilkolin pada konsentrasi optimum, penambahan ataupun pengurangannya akan menyebabkan menurunnya efisiensi penjerapan vesikel. Pengurangan konsentrasi fosfatidilkolin di bawah konsentrasi optimum menyebabkan vesikel fitosom yang terbentuk lebih sedikit sehingga efisiensi penjerapannya pun menurun sedangkan pada peningkatan konsentrasi fosfatidilkolin di atas konsentrasi optimum menyebabkan vesikel yang terbentuk terlalu lunak sehingga menyebabkan kebocoran vesikel fitosom.

Pembuatan fitosom bertujuan meningkatkan absorpsi obat sehingga memperbaiki bioavailabilitas dan meningkatkan efikasinya. Pembentukan vesikel dari senyawa bahan alam dengan molekul fosfolipid mampu meningkatkan bioavailabilitas senyawa bahan alam yang

bersifat hidrofilik. Karakteristik fosfolipid yang menyerupai membran sel manusia menjadikan fitosom kompatibel dengan tubuh manusia (Ramadon & Mun'im, 2015).

Selain pengaruh konsentrasi fosfatidilkolin, semakin meningkatnya jumlah dari fitokonstitue maka efisiensi penyerapan meningkat pula. Peningkatan konsentrasi tersebut akan menyebabkan konsentrasi di luar vesikel lebih tinggi daripada di dalam vesikel, sehingga mengakibatkan terjadinya perubahan tekanan osmotik antara di dalam dan di luar vesikel, perbedaan tekanan tersebut menyebabkan zat obat berdifusi ke dalam vesikel fitosom.

Penentuan Ukuran dan Distribusi Ukuran Vesikel

Vesikel dapat mengontrol laju pelepasan obat dan melindungi zat aktif dari respon imun atau melindungi tubuh dari efek iritasi zat aktif. Vesikel diharapkan memiliki ukuran yang relatif kecil mulai dari ukuran mikrometer hingga nanometer guna memudahkan vesikel untuk berpenetrasi menembus lapisan kulit. Menurut Tahir dkk (2016), unit struktural dan fungsional dari nanoteknologi dikenal sebagai nanopartikel. Partikel kasar berukuran 2.500–10.000 nm, partikel halus berukuran 100–2.500 nm, dan partikel *ultra-fine* berukuran 1–100 nm.

Analisis ukuran vesikel dilakukan dengan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) dengan metode pemendaran cahaya dinamis pada suhu 25°C (Rasaie et al., 2014). Pengukuran partikel dengan PSA (metode basa) dinilai lebih akurat daripada metode kering atau ayakan dan analisa gambar. Terutama sampel dalam orde nanometer dan submicron yang biasanya cenderung terjadi aglomerasi. Ketika sampel didispersikan ke dalam media maka tidak saling beraglomerasi sehingga yang terukur adalah *single particle*. Selain itu hasil pengukuran dalam bentuk distribusi sehingga menggambarkan keseluruhan kondisi sampel.

Tabel 4. Ukuran dan Distribusi Ukuran Vesikel Fitosom Ekstrak Daun Kersen

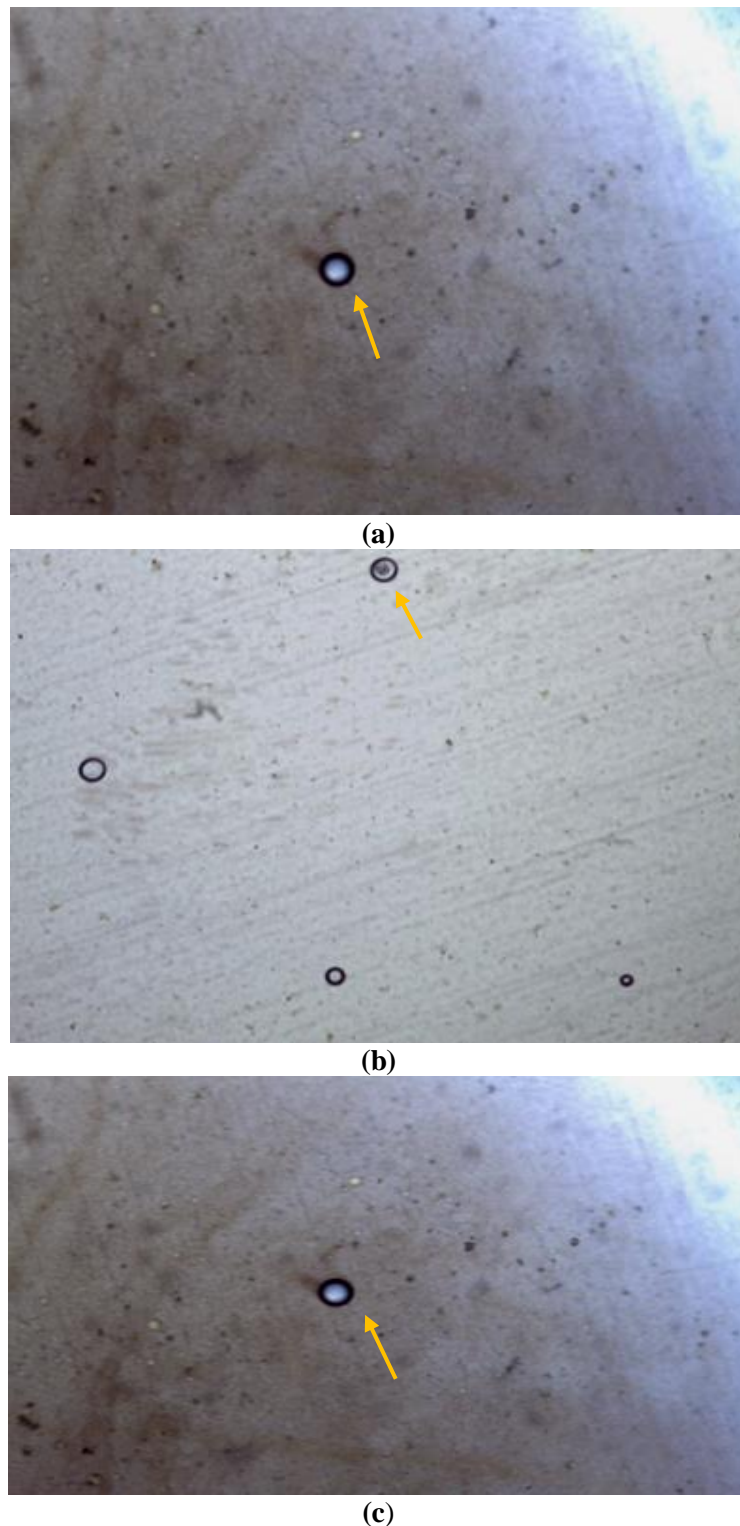
Formula	Parameter	Diameter (nm)	PI
A (0,5:0,5)	Nanopartikel	445,7	0,586
B (1:1)	Nanopartikel	420,7	0,309
C (1,5:1,5)	Nanopartikel	419,6	0,390

Hasil yang diperoleh dari ketiga formula memberikan hasil yang sesuai dengan nilai rujukan yaitu termasuk dalam rentang 10-1000 nm (Philippot & Francis, 1995). Ukuran vesikel <10 nm tidak diinginkan karena kemampuan penyerapannya rendah. Ukuran vesikel yang terlalu besar pun tidak diinginkan sulit berpenetrasi ke dalam kulit meskipun menjerap lebih banyak zat aktif (Tabel 4).

Indeks polidispersitas (PI) menunjukkan rentang distribusi ukuran vesikel dan mengetahui terjadinya agregasi. Monodispersi terbentuk jika PI 0,01-0,7 (Binarjo et al., 2015). Jika PI >0,7 maka distribusi ukuran nanopartikel tidak merata serta mudah terjadi aglomerasi.

Pengamatan Morfologi Vesikel

Pengamatan morfologi dilakukan dengan alat mikroskop optik binokuler dengan perbesaran 1000x karena perbesaran tersebut merupakan perbesaran maksimal mikroskop optik sehingga vesikel dapat teramati secara jelas pada perbesaran tersebut.



Gambar 2. Vesikel (A) Perbandingan 0,5:0,5 (B) Perbandingan 1:1(C) Perbandingan 1,5:1,5

Vesikel fitosom yang dihasilkan memiliki morfologi lapisan membran vesikel tunggal. Ukuran diameter vesikel fitosom masuk dalam rentang 100 nm hingga 1 μ m yang menunjukkan bahwa vesikel fitosom yang dihasilkan termasuk dalam kategori vesikel besar lapis tunggal atau

Large Unilamellar Vesicle (LUV). Keuntungan bentuk vesikel lapis tunggal adalah jumlah obat yang dapat terperap lebih banyak dibandingkan bentuk vesikel *multilamellar* maupun vesikel kecil lapis tunggal. Prinsip fitosom ialah suatu kompleks yang terbentuk antara fitokonstituen dengan fosfolipid yang memiliki sifat mirip dengan membran sel. Fosfolipid memiliki kepala yang polar dan bagian ekor yang non polar. Fitokonstituen berikatan dengan bagian kepala dari fosfolipid menghasilkan kompleks. Satu molekul fitokonstituen berikatan dengan satu molekul fosfatidilkolin menghasilkan ikatan yang sangat kuat (Sherin et al., 2019).

Berdasarkan hasil karakterisasi vesikel fitosom, maka formula yang paling optimum adalah formula 3 dengan variasi rasio 1,5% ekstrak dan 1,5% fosfatidilkolin dengan nilai efisiensi penyerapan sebesar 68,806%, distribusi ukuran partikel fitosom sebesar 419,6 nm serta memiliki morfologi vesikel yaitu vesikel besar lapis tunggal atau *Large Unilamellar Vesicle* (LUV).

5. KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun kersen dapat dipreparasi ke dalam pembawa fitosom dengan konsentrasi fosfatidilkolin dan ekstrak yang paling efektif yaitu 1,5:1,5 dengan metode penguapan pelarut dan hidrasi lapis tipis. Karakteristik vesikel yang dihasilkan yaitu untuk nilai efisiensi penyerapan vesikel fitosom berkisar 5,83%-68,806%, distribusi ukuran yaitu 445,7-419,6 nm, dan morfologi berupa vesikel besar lapis tunggal atau *Large Unilamellar Vesicle* (LUV).

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo atas fasilitas laboratorium penelitian.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Angelina, M., Amelia, P., Irsyad, M., Meilawati, L., & Hanafi, M. (2015). Karakterisasi Ekstrak Etanol Herba Katumpangan Air (*Peperomia pellucida* L. Kunth) (Characterization of Ethanol Extract from Katumpangan Air Herbs (*Peperomia*). *Universitas Islam Negeri Jakarta*.
- Ayuhastuti, A., Anisha N.A., & Siti R.F. (2017). Development of Phytosome – Black Tea Extract Complex by Different Methods and Study of Cholesterol's Effect on Entrapment Efficiency, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, Vol.8(1), 0975-8585.
- Azzahra, L., & Musfiroh, I. (2018). Etosom sebagai Penghantar Obat Herbal Hidrofilik. *Majalah Farmasetika*. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v3i4.23483>
- Bendas, E.R. & Mina I.T. (2007). Enhanced Transdermal Delivery of Salbutamol Sulfate via Ethosomes. *AAPS Pharmacy Science and Technology*, Vol.8 (4): 1–8.
- Binarjo, A., Yuwono, T., & Priyanti, R. (2015). Pengembangan Preparasi Nanopartikel Thymoquinone-Kitosan Dengan Metode Kosolven Menggunakan Isopropil Alkohol. *Pharmaciana*. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i2.2363>
- Deck, D.H., PharmD, Lisa. G., Winston, M. D. (2012). Chapter 47: Antimycobacterial Drugs. 2012. In: Katzung, B.G., Masters, S.B., et al. Basic & Clinical Pharmacology 12th edition. In *Basic and clinical Pharmacology*.
- Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. S., & Mohammad, N. S. (2009). Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas y aceites*, 60(4), 405-412.
- Depkes, R. (2008). Farmakope Herbal Indonesia. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Ditjen POM. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. (2014). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) RM Sm) menggunakan metode DPPH. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(2), 3.

- Hasanah, M., Andriani, N., & Noprizon, N. (2016). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Hasil Ekstraksi Maserasi Dan Refluks. *Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*. <https://doi.org/10.36434/Scientia.V6i2.52>
- Isnawati, A., Alegantina, S., & Widowati, L. (2013). Karakterisasi ekstrak etanol biji klabet (*Trigonella foenum-graecum L.*) sebagai tanaman obat pelancar ASI. *Buletin Penelitian Kesehatan*.
- Kalita, B., Das, M. K., & Sharma, A. K. (2013). Novel Phytosome formulations in making herbal extracts more effective. In *Research Journal of Pharmacy and Technology*.
- Kumar J. Ashok., Nikhila Pullakandam., S. Lakshmana Prabu., & V. Gopal. (2009). Transdermal Drug Delivery System: An Overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, Vol. 3 (2).
- Kuntorini, E. M., Fitriana, S., & Astuti, D. (2013). Struktur Anatomi dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Lee, J., Koo, N., & Min, D. B. (2004). Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00058.x>
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53-62.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Philipot, J. R., & Francis S. (1995). *Liposomes as Tools in Basic Research and Industry*, CRC Press Inc. United States of America.
- Prasetyo, dan Inorah, E. (2013). *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)*. Badan Penerbitan Fakultas Pertanian, UNIB.
- Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. (2016). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 13(2), 16-23.
- Ramadan, D., & Mun'im, A. (2017). Pemanfaatan nanoteknologi dalam sistem penghantaran obat baru untuk produk bahan alam. *Jurnal ilmu kefarmasian Indonesia*, 14(2), 118-127.
- Rasaie, S., Ghanbarzadeh, S., Mohammadi, M., & Hamishehkar, H. (2014). Nano phytosomes of quercetin: A promising formulation for fortification of food products with antioxidants. *Pharmaceutical Sciences*.
- Dahlia, A. A., & Ahmad, A. R. (2014). Penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanolik daun benalu mangga (*dendrophthoe pentandra l. miq.*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1).
- Sherin, F., Saju, F., Jagadeesh, A., Syamasree, S., Paul, N., & Venugopal, A. (2019). Ethosome: A novel approach to enhance drug permeation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*.
- Simbala, H. E. (2009). Analisis senyawa alkaloid beberapa jenis tumbuhan obat sebagai bahan aktif fitofarmaka. *Pacific Journal*, 1(4), 489-494.
- Solichin, O. V. (2014). Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Dpph (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1).
- Tahir, K. A., Sartini, S., & Lidjaja, A. (2016). Preparasi Fitosom Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Menggunakan Variasi Konsentrasi Fosfatidilkolin. *Jurnal farmasi UIN Alauddin Makassar*, 4(4), 159-164.
- Sutarna, T. H., Alatas, F., Ratih, H., Anggraeni, W., & Purnamasari, N. (2016). 'Pengaruh penambahan vitamin C sebagai antioksidan terhadap nilai Sun Protective Factor (SPF) dari Oktil Metoksisinamat.
- Utomo, A. D., Rahayu, W. S., & Dhiani, B. A. (2009). Pengaruh beberapa metode pengeringan terhadap kadar flavonoid total herba sambiloto (*Andrographis paniculata*). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 6(01).
- Wulandari V., Dirayah R.H., Sartini, & Nur H. (2012). Pengujian Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Daun Beluntas *Pluchea indica* Less. Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah*. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Juniarti Departemen Biokimia, F. K. (2011). Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara Journal of Science*.