

Efektivitas Sistem Penghantaran Liposom pada Katekin Sebagai Antioksidan

(The Effectiveness of Liposome Delivery System of Catechin as Antioxidant)

Verawaty^{1*}, Auzal Halim² & Febriyenti²

¹Akademi Farmasi Proyoga, Padang

²Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang

Keywords:
liposomes; catechins;
antioxidants.

Kata kunci:
liposom; katekin;
antioksidan.

ABSTRACT: A study on the effectiveness of liposome delivery system of catechin as an antioxidant has been done. Liposome was derived from phosphatidylcholine of egg and cholesterol. The method used to prepared liposome in this research was thin layer hydration method by using rotary evaporator. Liposome was made in 3 formulas with different comparison between phosphatidylcholine and cholesterol. The first formula with ratio of 1:1; second formula with ratio of 1:2 and third formula with a ratio of 2:1. The result found that the observation with SEM seen sperical liposome and some oval liposomes. The level of entrapment efficiency (%EP) obtained on Formula I, II, and III were 24.49%, 24.67%, and 20.06%, respectively. We can conclude that the increase of cholesterol will increase the efficiency of drug entrapment. Test of the effectiveness of antioxidant found formula II was better than formula I and formula III. It can be concluded that the increase of cholesterol was able to improve the formulation and stability of liposome.

ABSTRAK: Telah dilakukan penelitian efektivitas sistem penghantaran liposom pada katekin sebagai antioksidan. Liposom dibuat dari fosfatidilkolin yang berasal dari telur dan kolesterol. Metoda liposom yang digunakan pada penelitian ini adalah metoda hidrasi lapis tipis menggunakan rotary evaporator. Liposom dibuat dalam 3 formula yang memiliki perbandingan berbeda antara fosfatidilkolin dan kolesterol. Formula 1 dengan perbandingan 1:1; formula 2 dengan perbandingan 1:2 dan formula 3 dengan perbandingan 2:1. Dari hasil pengamatan dengan SEM terlihat globul-globul liposom berbentuk bola sferis dan ada juga yang lonjong. Efisiensi penjerapan (% EP) didapatkan formula I sebesar 24,49%, Formula II sebesar 24,67% dan formula III sebesar 20,06%. Disini terlihat bahwa semakin meningkatnya kolesterol yang digunakan akan semakin meningkat pula efisiensi penjerapan obat. Pada uji daya antioksidan pada supernatan didapatkan formula II lebih baik dibandingkan formula I dan formula III, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin besar kolesterol maka formulasi liposom akan lebih bagus dan stabil.

PENDAHULUAN

Katekin merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat di alam seperti pada daun teh hijau, gambir, biji anggur dan makanan nabati lainnya.

Katekin memiliki potensi sebagai pencegahan dan terapi untuk berbagai kondisi yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif seperti kanker, penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif. Selain itu, bukti juga menunjukkan bahwa katekin

*Corresponding Author: Verawaty (Akademi Farmasi Proyoga, Padang)
email: verawaty77@gmail.com

Article History:
Received: 05 Apr 2016
Published: 01 May 2016

Accepted: 14 Apr 2016
Available online: 30 Oct 2016

efektif untuk mengobati kutil kelamin [1]. Telah dilaporkan bahwa katekin dapat berkhasiat sebagai antioksidan bila digunakan secara topikal dan merupakan komponen yang efektif sebagai antiaging. Salah satunya yang telah dilaporkan oleh *University of Europe* terhadap kemampuan anti penuaan dari katekin, dimana katekin dengan konsentrasi 0,001%-10% efektif menghambat aktivitas enzim elastase, dimana enzim elastase dapat merusak elastin kulit. Jika elastin kulit rusak dapat menyebabkan hilangnya elastisitas kulit dan meningkatkan terbentuknya kerutan. Selain itu, penelitian yang dilakukan di Universitas Indonesia menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari katekin pada konsentrasi mulai dari 0,1% [2].

Katekin yang bersifat hidrofilik bila digunakan sebagai obat topikal mengalami masalah penetrasi sewaktu melewati stratum korneum karena pada stratum corneum banyak mengandung lipid. Senyawa yang mempunyai koefisien partisi kurang dari 1 menyebabkan obat praktis tidak diserap oleh kulit. Oleh karena itu, katekin sebagai senyawa hidrofilik, mempunyai daya penetrasi yang terbatas pada stratum corneum. Sifat katekin yang tidak stabil diudara dan mudah teroksidasi pada pH mendekati netral menyebabkan katekin sulit diformulasi sebagai sediaan topikal [1, 3, 4].

Oleh karena itu dibutuhkan suatu sistem penghantaran obat yang lebih baik. Salah satu metoda penghantaran obat yang baik dan dapat digunakan secara topikal adalah metoda liposom. Liposom telah dianggap model yang sangat baik dari membran sel. Beberapa penelitian yang telah dilakukan tentang liposom sebagai sistem penghantaran obat secara topikal telah banyak dilaporkan, seperti oleh Suraj R. Wasankar (2012); Varshneya Aparajita (2014); Rathore Arvind Singh (2013). Mereka melaporkan bahwa liposom merupakan sistem penghantaran obat yang baik untuk sediaan topikal. Liposom merupakan salah satu sistem penghantaran obat yang unik, dimana

karakter amfifiliknya memungkinkan solubilisasi atau enkapsulasi obat, baik yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik. Seiring dengan kekuatan solubilisasinya yang baik, pembuatannya pun relatif mudah dan menjadikan liposom sebagai sistem pembawa obat yang menarik. Oleh karena itu formulasi katekin dengan teknik liposom dapat mengatasi masalah penetrasi katekin ke dalam stratum corneum dan stabilitas katekin pun akan lebih baik karena katekin terbungkus di dalam liposom [5, 6, 7].

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yakni timbangan analitik (Adam AAA 250 LE), Bath Sonikator (Elmasonic S80H), Rotary Evaporator (Buchi), kertas pH, sentrifugator (Thermo Scientific), desikator, HPLC (Shimadzu, particle size 5 µm, 4,6 mm x 150 mm), SEM (HITACHI S-3400N), Particle Size Analyser (PSA, Horiba Scientific SZ-100), carbon tape conductor, microtube.

Bahan yang digunakan yakni Egg Fosfatidilkolin/EPC (Sigma, Singapura), Katekin (Sigma, Singapura), Kolesterol (Sigma, Singapura), kalium Dihidrogenfosfat (Brataco), natrium hidroksida (Brataco), Aqua demineralisata, Kloroform (Merck), metanol, DPPH (Sigma, Singapura)

Cara Kerja

1. Pembuatan larutan Buffer Fosfat pH 7,4 [8]

Pembuatan dapar pospat dilakukan sesuai yang terdapat pada Farmakope Indonesia

2. Pembuatan Liposom [9]

Formulasi Liposom Katekin, dengan membuat 3 variasi formula dan dibuat dengan metoda Hidrasi Lapis Tipis.

Tabel 1. Tabel komposisi komponen liposom

Formula	Katekin	Komponen Liposom	
		Egg Fosfatidilkolin (EGC)	Kolesterol
I	10 mg	30 mg	30 mg
II	10 mg	20 mg	40 mg
III	10 mg	40 mg	20 mg

Campurkan EPC dan kolesterol dengan perbandingan sesuai formula yang tertera pada tabel diatas. Larutkan EPC dan kolesterol ke dalam 10 mL kloroform. Uapkan pelarut dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 30°C dengan kecepatan 125 rpm. Setelah terbentuk lapisan tipis pada dinding labu, hidrasi lapisan tersebut dengan 10 mL larutan dapar fosfat pH 7,4 yang mengandung katekin, lalu nyalakan rotary evaporator tanpa vakum selama 1 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 125 rpm. Lakukan metoda sonifikasi selama 15 menit untuk menghomogenkan ukuran liposom.

3. Evaluasi Liposom

Pemeriksaan Organoleptis [10, 11]

Pengamatan pada suspensi liposom yang di dapatkan setelah proses pembuatan. Catat hasil yang didapatkan.

Pemeriksaan Morfologi bentuk vesikel menggunakan SEM (Scanning Electron Microscope)

Untuk melihat morfologi, karakteristik dan ukuran vesikel liposom menggunakan SEM (Scanning Electron Microscope). Morfologi liposom menunjukkan bentuk bulat seperti bola.

Pengukuran Distribusi Partikel [1]

Dilakukan dengan menggunakan alat Particle Size analyzer (PSA) dengan metoda light scattering (pemendaran cahaya) pada suhu 25°C. Sebelum diukur, sampel di dispersikan terlebih dahulu

ke dalam media pendispersi. Media pendispersi yang digunakan sebagai baseline adalah larutan aquadest, dimasukkan ke dalam fluid tank. Setelah itu, sampel diteteskan sedikit demi sedikit pada baseline dan akan terukur ukuran partikel dari globul-globul liposom.

Penentuan efisiensi penjerapan obat (%EP) menggunakan HPLC [1]

Pemurnian liposom dilakukan dengan menggunakan metoda sentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 30 menit sehingga didapatkan presipitat dan supernatan. Supernatan diambil untuk diuji konsentrasi obat yang terbebas (free drug) dari liposom. Sedangkan presipitat dilarutkan terlebih dahulu ke dalam etil asetat dan kemudian diambil untuk diuji konsentrasi obat yang terjerap di dalam liposom. Keduanya diuji dengan menggunakan HPLC. Kemudian di hitung persentase dari efisiensi penjerapan (%) bahan obat dapat digunakan rumus:

$$\%EP = \frac{(C_{total} - C_{supernatan})}{C_{total}} \times 100\%$$

Keterangan:

C_{total} merupakan konsentrasi obat total yang terdapat pada supernatan dan presipitat

$C_{supernatan}$ merupakan konsentrasi obat pada supernatan yang didapat

Penentuan Aktivitas Antioksidan Supernatan Metode Peredaman DPPH dari Formulasi Liposom.

Larutan uji dibuat dengan cara 0,2 mL dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 3,8 mL DPPH 35 ppm. Campuran dikocok selama 20 detik kemudian larutan uji dan blanko diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Uji antioksidan dilakukan dengan metode peredaman DPPH dan pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV Vis. Serapan atau absorbansi larutan uji diukur pada panjang gelombang

maksimum 517 nm. Dari data absorbansi yang didapat kemudian dihitung persentase inhibisi supernatan terhadap radikal bebas DPPH.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs DPPH}} \times 100 \%$$

HASIL DAN DISKUSI

Pemeriksaan Organoleptis

Suspensi liposom yang terbentuk berwarna orange dan tidak terdapat perbedaan warna pada ketiga formula dikarenakan jumlah zat aktif yang ditambahkan sama. Bau yang dihasilkan adalah bau fosfatidilkolin yaitu bau telur karena fosfatidilkolin yang digunakan berasal dari telur.

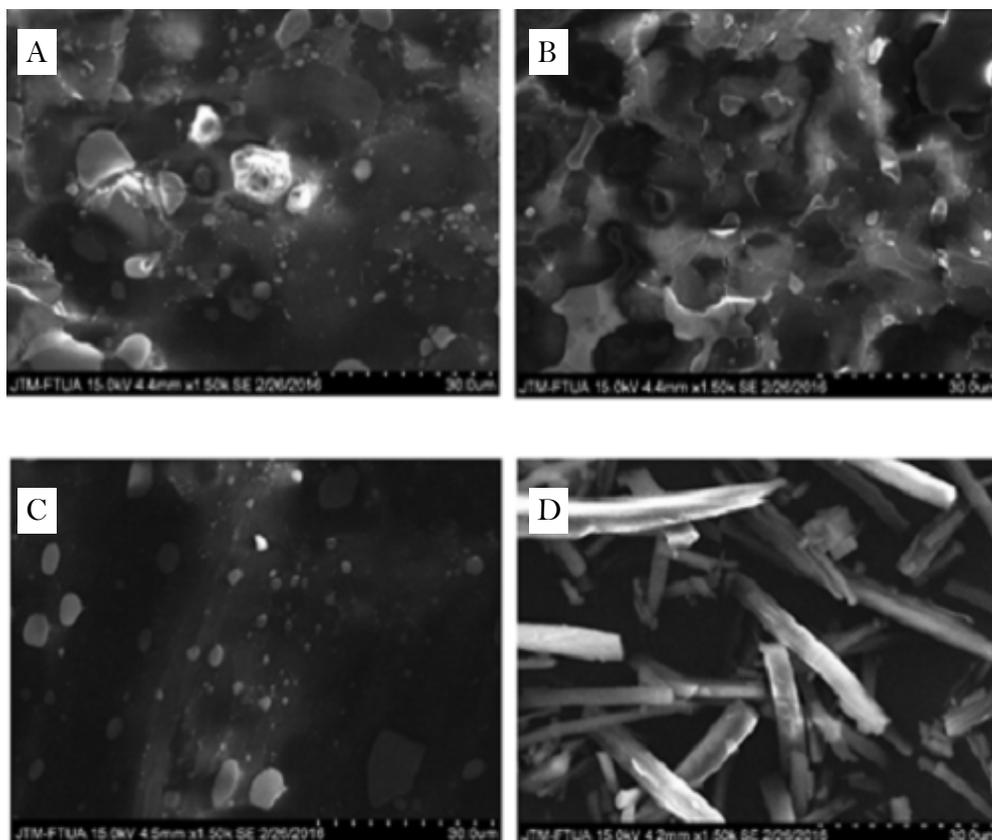
Pemeriksaan Morfologi bentuk vesikel menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*)

Suspensi liposom yang telah kering dapat dibaca pada alat SEM dengan perbesaran 1000x dan 1500x. Pada perbesaran ini terlihat globul-globul liposom berbentuk bola sferis dan ada juga yang lonjong. Pengamatan dengan SEM masih belum dapat memperlihatkan bentuk lamelar dari liposom.

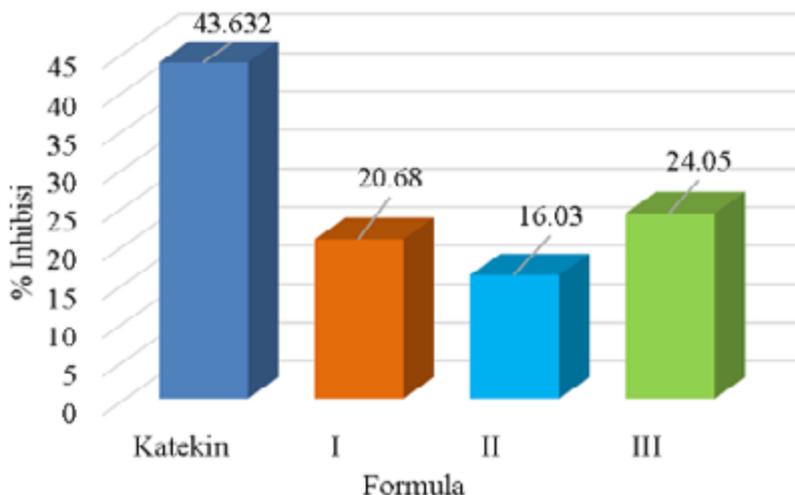
Pengukuran Distribusi Partikel

Tabel 2. Tabel distribusi partikel liposom katekin dan efisiensi penjerapan

Formula	D _{mean} (nm)	%EP
I	2977,5	24,49
II	1182,9	24,67
III	839,2	20,06



Gambar 1. Hasil SEM pada perbesaran 1500x. (A) Formula I (EPC : Cholesterol = 1 : 1), (B) Formula II (EPC : Cholesterol = 1 : 2), (C) Formula III (EPC : Cholesterol = 2 : 1), (D) Katekin



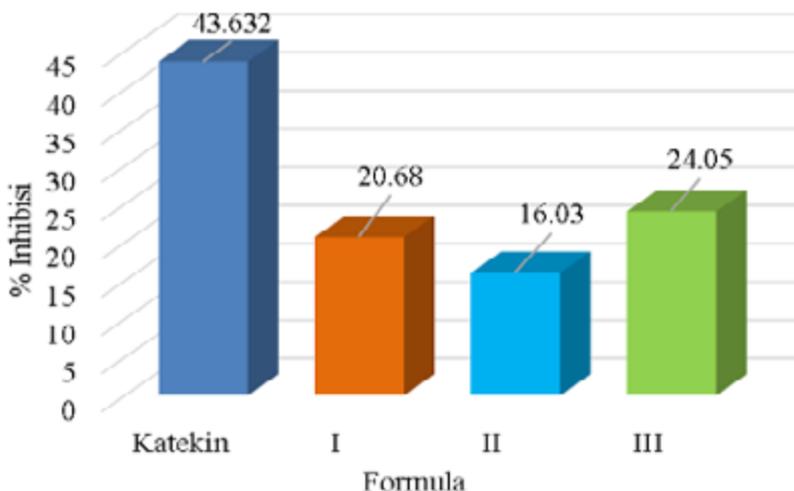
Gambar 2. Grafik % efisiensi penyerapan (%EP) liposom katekin

Dari hasil pengukuran terlihat bahwa liposom formula I dan formula II memiliki ukuran partikel yang lebih besar dari 1000 nm, yang termasuk dalam *Giant Unilamellar Vesicles* (GUV) sementara liposom formula III memiliki ukuran 100-1000 nm yang termasuk dalam *Large Unilamellar Vesicles* (LUV). Hasil yang diperoleh ternyata berbeda, hal ini dapat disebabkan karena kegagalan sonifikasi dan waktu simpan yang terlalu lama antara setelah

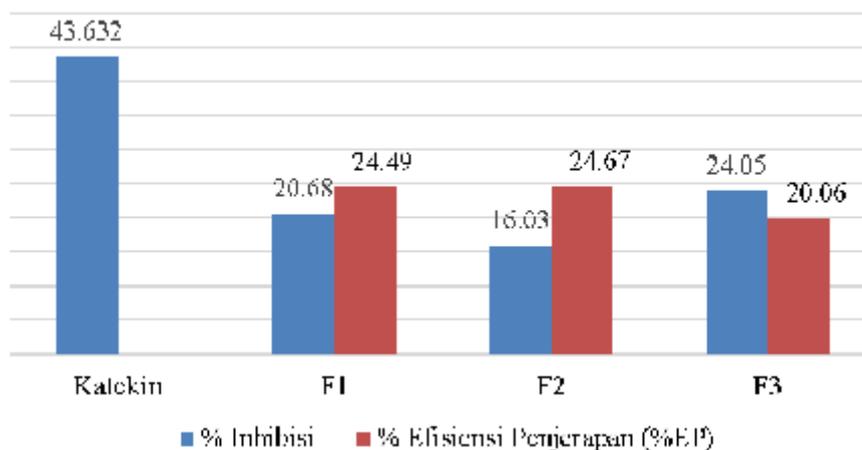
sonikasi dengan pengukuran.

Penentuan efisiensi penyerapan obat (%EP) menggunakan HPLC

Dari hasil analisa dengan HPLC didapatkan bahwa Efisiensi penyerapan antara formula I dan formula II tidak ada perbedaan yang signifikan yaitu 24,49% dan 24,67% sementara formula III memiliki efisiensi penyerapan yang lebih rendah yaitu 20,06%. Dari hasil analisis ketiga formula ini dapat disimpulkan bahwa semakin meningkatnya kolesterol yang digunakan akan semakin



Gambar 3. Diagram persentase inhibisi antioksidan formulasi liposom katekin



Gambar 4. Diagram persentase inhibisi dan persentase efisiensi penyerapan

meningkat pula efisiensi penyerapan obat. Hal ini dikarenakan kolesterol berfungsi sebagai penstabil liposom yang menurunkan permeabilitas sehingga mencegah kebocoran obat [12].

Pada pembuatan liposom digunakan metoda hidrasi lapis tipis karena lebih murah dan lebih sederhana dibandingkan dengan metoda pembuatan liposom lainnya tetapi metoda hidrasi lapis tipis ini memiliki kelemahan yaitu kemampuan enkapsulasinya yang rendah sehingga efisiensi penyerapannya pun rendah yaitu berkisar antara 5-15% untuk senyawa yang bersifat hidrofilik dan katekin merupakan senyawa yang bersifat hidrofilik [10, 13]. Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan dalam pembuatan liposom dengan teknik hidrasi lapis tipis juga memberikan % Efisiensi penyerapan yang rendah.

Penentuan Aktivitas Antioksidan Supernatan Metode Peredaman DPPH dari Formulasi Liposom.

Hasil persen inhibisi yang didapat dari katekin, formula I, formula II, dan formula III adalah 43,632%; 20,68%; 16,03% dan 24,05%. Dari hasil yang diperoleh terlihat bahwa % Inhibisi

katekin sangat tinggi yaitu 43,632% sehingga dapat disimpulkan bahwa katekin dapat berfungsi sebagai senyawa antioksidan dengan IC50 adalah 15,92 ppm. Sementara dari formula I, formula II dan formula III didapatkan % Inhibisi yang berbeda dan semakin menaik jumlah fosfatidilkolin maka semakin tinggi % Inhibisinya. Semakin rendah % Inhibisi supernatan maka semakin besar persentasinya penyerapannya, karena semakin rendah aktivitas antioksidan supernatan menunjukkan kandungan zat aktif yang terjerap pada liposom lebih besar [14].

KESIMPULAN

Katekin dapat diformulasi menggunakan sistem penghantaran obat dengan metoda liposom dan tetap memberikan efek antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Yayasan Prayoga yang telah membantu dalam hal dana penelitian dan kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Guanyu Chen, D.L., Ye Jin, Weiyu Zhang, Lirong Teng. (2014). Deformable liposomes by reverse-phase evaporation method for an enhanced skin delivery of (z)-catechin. *Drug Dev Ind Pharm*, 40(2): p. 260-265.
2. Aisyahni, M. (2012). Formulasi Sediaan Krim Wajah Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria Gambir Roxb.*) Dengan Basis Virgin Coconut Oil (VCO). Skripsi. Universitas Islam Bandung. Bandung.
3. Jia-You Fang, T.-L.H., Yen-Ling Huang, Chia-Lang Fang. (2006). Enhancement Of The Transdermal Delivery Of Catechins By Liposomes Incorporating Anionic Surfactants And Ethanol. *International Journal of Pharmaceutics*, 310: p. 131-138.
4. Lucida, H. (2006). Determination of the ionization constants and the stability of catechin from gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) *Roxb.*). ASOPMS 12 International Conference.
5. Rathore A S, J.R.C., Sharma Narendra, Tiwari Rahul, farheen fiza, Sharma Garima. (2013). A Review on Liposomes as a Topical Drug Delivery. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Research*, 3(4): p. 3420-3432.
6. Varshneya A, P.R. (2014). Liposomes As Carriers In Skin Ageing. *Int J Curr Pharm Res*, 6(3): p. 1-7.
7. Wasankar S R, D.A.D., Ughade M A, Rahul M. Burghat , Dhaval P. Gandeche, Rinkesh R. Meghwani, Syed M. Faizi. (2012). Liposome as a Drug Delivery System- A Review. *Research J. Pharma. Dosage Forms and Tech*, 4(2): p. 104-112.
8. Kesehatan, R.D. (1979). *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta.
9. J.S. Dua, P.A.C.R., Dr. A. K. Bhandari. (2012). Liposome: Methods of preparation and applications *IJPSR*, 3(2): p. 14-20.
10. Olga Popovska, J.S., Zoran Kavrovski, Vesna Rafajlovska and (2013). An Overview: Methods for Preparation and Characterization of Liposomes as Drug Delivery Systems *Int. J. Pharm. Phytopharmacol*, 3(2): p. 13-20.
11. Anwekar. H., P.S., & singhai. A. K. . (2011). Liposome as Drug Carriers. *Int. J. Of Pharm. & Life Sci.*, 2(7): p. 945-951.
12. Uster. (1991). *Liposome Gel Composition and Method*. United States Patent.: p. 3-5.
13. Kalepu S., S.K.T., Sudheer Betha., Mohanvarma M. (2013). Liposomal drug delivery system - A Comprehensive Review. *Int. J. Drug Dev. & Res*, 5(4): p. 62-75.
14. Venkateswarlu, I., J. Reddy, Ramesh, V. Reddy, Pravallika dan Suneetha. (2011). A Review on Liposomes. *Res. J. Pharmaceut., Bio. Chem. Sci*, 2: p. 739-751.