

Formulasi Liposom Ekstrak Terpurifikasi *Centella asiatica* Menggunakan Fosfatidilkolin dan Kolesterol

(Formulation of *Centella asiatica* Purified Extract Liposome using Phosphatidylcholine and Cholesterol)

Febriyenti*, Deddi Prima Putra, Elyana Indah Wicaksanti & Citra Dewi Hamami

Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

ABSTRACT: A study about preparation of *Centella asiatica* purified extract liposome using phosphatidylcholine and cholesterol had been done. The aims of this study were to know the ideal composition or ratio between *Centella asiatica* purified extract with phosphatidylcholine and to evaluate the effect of cholesterol addition to the liposome produced. The thin film hydration method was used in this study. The ratio between extract and phosphatidylcholine were prepared into three formulas: F1 (1:4 w/w), F2 (1:6 w/w), F3 (1:10 w/w). The F2 lipid thin film was the easiest one to hydrate. These three formulas exhibited milky white liposome dispersion after hydration process. Then three formulas with cholesterol addition were prepared FK1 (1:3:3 w/w), FK2 (1:2:4 w/w), FK3 (1:1:5 w/w). The results of the observation of liposome dispersion using SEM (scanning electron microscope) showed vesicle morphology shaped spheres. The FK1 lipid thin film was easier to hydrate than other formulas and not aggregated. The color of the liposome vesicles containing cholesterol had not changed for six months, while the color of the other liposome vesicles had become yellowish.

Keywords: *Centella asiatica*; liposome; phosphatidylcholine; cholesterol.

ABSTRAK: Penelitian mengenai pembuatan liposom ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* menggunakan fosfatidilkolin dan kolesterol telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan yang ideal antara ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* dengan fosfatidilkolin dan pengaruh penambahan kolesterol terhadap liposom yang dihasilkan. Metoda pembuatan liposom yang digunakan adalah hidrasi lapis tipis. Rasio ekstrak dengan fosfatidilkolin dibuat tiga variasi formula: F1 (1:4 b/b), F2 (1:6 b/b), F3 (1:10 b/b). Lapis tipis lipid F2 paling mudah dihidrasi. Hasil hidrasi ketiga formula menunjukkan dispersi liposom yang berwarna putih susu. Kemudian dibuat tiga formula dengan penambahan kolesterol yaitu FK1 (1:3:3 b/b), FK2 (1:2:4 b/b), FK3 (1:1:5 b/b). Hasil pengamatan dispersi liposom menggunakan SEM (scanning electron microscope) menunjukkan morfologi vesikel berbentuk sferis. Lapis tipis lipid FK1 mudah dihidrasi dan tidak menggumpal. Vesikel liposom yang mengandung kolesterol tidak mengalami perubahan warna setelah disimpan selama 6 bulan, sedangkan yang tidak mengandung kolesterol, warnanya menjadi kekuningan.

Kata kunci: *Centella asiatica*; liposom; fosfatidilkolin; kolesterol.

Pendahuluan

Efek obat di dalam tubuh salah satunya dipengaruhi oleh metode penghantarannya karena dalam penghantaran menuju organ target, obat seringkali mengalami beberapa hambatan yang mengakibatkan berkurangnya efektivitas obat. Oleh karena itu diperlukan suatu sistem penghantaran obat (*drug delivery system*) yang dapat menghantarkan obat langsung menuju target, baik berupa reseptor, jaringan maupun organ di dalam tubuh [1]. Beberapa sistem penghantar obat yang telah ada antara lain: niosom, mikropartikel, *realesed erythrocytes*, *pharmacosomes*, dan liposom. Dari sekian banyak sistem

penghantar obat, liposom menjadi salah satu yang paling pesat pengembangannya dan penggunaannya [2-4].

Liposom adalah berupa gelembung kecil /vesikel yang terbuat dari fosfatidil lapis ganda. Liposom merupakan sistem yang menjadi kandidat penting sebagai penghantar obat menuju sel atau jaringan target, mengurangi toksisitas dan meningkatkan indeks terapetik [3-6]. Sifat bahan pembentuk liposom mirip dengan membrane sel sehingga liposom dapat dimanfaatkan untuk membawa obat dengan berbagai macam rute pemberian tanpa dipengaruhi oleh sifat kelarutannya. Liposom menjadi suatu sistem penghantar yang

Access this article



*Corresponding Author: Febriyenti

Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Jalan Universitas Andalas, Limau Manis, Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat 25163 | Email: febriyenti74@gmail.com

menjanjikan bagi sebagian besar obat seperti: antimikroba, obat kanker, obat antifungi, hormon peptida, enzim, vaksin dan material genetik [3,6].

Liposom merupakan suatu sistem koloidal berupa gelembung berbentuk bola dengan lipid lapis ganda di bagian kulit dan sebuah kompartemen air (inti air) di bagian dalam [2-4]. Liposom memiliki struktur yang bersifat hidrofilik dan lipofilik sehingga obat yang bersifat hidrofilik terjerat pada bagian inti air sedangkan obat lipofilik terjerat pada bagian lipid lapis ganda. Karakteristik liposom yang tersusun dari fosfolipid (mirip membran sel) menjadikan liposom bersifat biokompatibel, biodegradabel dan nonimunogenik [2,3,7]. Di dalam beberapa dekade ini liposom berisi obat dibuat dengan tujuan: memperbaiki kelarutan, mengurangi efek samping, pelepasan diperlama, melindungi obat, obat tertarget dan peningkat efikasi [4,7-9].

Komposisi liposom umumnya terdiri dari fosfolipid alami atau sintetis (seperti fosfatidiletanolamin, fosfatidilgliserol, fosfatidilkolin, fosfatidilserin, fosfatidilinositol). Fosfatidilkolin (yang dikenal juga sebagai lesitin) dan fosfatidiletanolamin merupakan komponen struktural utama dari membran biologis yang terdapat di dalam tubuh. Liposom juga mengandung unsur lain seperti kolesterol, polimer hidrofilik lipid terkonjugasi dan air. Penambahan kolesterol sebagian besar telah digunakan untuk meningkatkan karakteristik bilayer liposom [2]. Menurut Shashi *et al.* [3], kegunaan penambahan kolesterol pada liposom dapat menurunkan fluiditas dan mikroviskositas, sehingga mencegah kebocoran, mengurangi permeabilitas membran pada molekul larut air, menjaga stabilitas dalam cairan biologis, seperti plasma. Hal ini menambah daftar keuntungan liposom dimana membran lipid terbuat dari lipid fisiologis yang dapat mengurangi bahaya toksitas akut dan kronis [2]. Selain itu, kolesterol dapat meningkatkan efisiensi penyerapan obat pada sediaan. Efisiensi penyerapan obat ini merupakan komponen penting dalam formulasi liposom, karena hal ini berkaitan dengan tingkat bioavailabilitas dan konsentrasi obat yang berguna dalam penentuan dosis pada terapi [10].

Liposom tidak hanya digunakan sebagai sistem penghantar obat sintetis tetapi juga digunakan sebagai penghantar senyawa metabolit sekunder dari suatu tumbuhan seperti kurkumin dan asiatikosida [9,11]. Asiatikosida merupakan senyawa metabolit dari tumbuhan *Centella asiatica*. Tumbuhan ini dikenal memiliki khasiat luar biasa diantaranya adalah dapat mempercepat penyembuhan luka, luka bakar, luka nanah ringan, mencegah keloid dan bekas luka hipertropik [12]. Ekstrak terpurifikasi tumbuhan ini dikenal dengan istilah *titrated extract of Centella asiatica* (TECA) mengandung 40% asiatikosida (glikosida) dan 60% asam asiatat dan asam madekasat (asam terpen) [13].

Ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* memiliki khasiat dalam penyembuhan penyakit sirkulasi mikro: inflamasi kulit (eksim, dermatitis atopik, lepra/kusta, ulkus pembuluh vena), demam, gangguan pencernaan dan kondisi yang berkaitan dengan sistem urin dan reproduksi [14]. Tetapi ekstrak ini memiliki kekurangan yaitu kelarutan yang buruk di dalam air maupun di dalam medium minyak [15]. Ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* memiliki berat molekul yang besar sehingga ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* hampir tidak dapat diserap kulit. Senyawa ini juga memiliki kelarutan yang buruk dalam lemak (*liposolubility*). Selain itu, stabilitas senyawa ini juga kurang stabil karena mudah teroksidasi dan rusak [9,15].

Oleh karena besarnya khasiat ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* serta adanya keterbatasan kelarutan ekstrak ini maka diperlukan suatu sistem penghantar yang cocok. Liposom sebagai sistem penghantar yang mudah disesuaikan baik untuk senyawa hidrofilik maupun lipofilik, merupakan solusi tepat untuk ekstrak ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi atau rasio ekstrak dengan fosfatidilkolin (penyusun utama liposom) kemudian rasio ekstrak dengan fosfatidilkolin dan kolesterol agar didapatkan formula liposom yang ideal. Serta untuk mengetahui pengaruh penambahan kolesterol pada sediaan liposom ini. Diharapkan dengan didapatkannya formula liposom yang ideal bisa menyumbang diversifikasi sistem penghantar dari tumbuhan herba *Centella asiatica*.

Metode Penelitian

Bahan

L- α Fosfatidilkolin (*Sigma Aldrich*, Singapura), *Titrated Extract Centella asiatica* (TECA) (Labor Biota Sumatra, Universitas Andalas), asiatikosida (Labor Biota Sumatra, Universitas Andalas), kolesterol (*Sigma Aldrich*, Singapura), kloroform (Merck, Jerman), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Merck, Jerman), aqua bidestilata.

Pembuatan Liposom

Lipid dan ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* dicampurkan dengan perbandingan sesuai formula. TECA (10 mg) dan lipid (L- α fosfatidilkolin; kolesterol) kemudian dilarutkan di dalam kloroform (10 mL). Larutan lipid diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 30 °C. Alat *rotary evaporator* (Buchi, Swiss) yang digunakan otomatis sehingga sebelum digunakan data larutan kloroform dimasukan terlebih dahulu. Lapisan lipid yang terbentuk dihidrasi dengan larutan penyangga fosfat pH 7,4 sebanyak 7 mL untuk mendapatkan *liposom vesicle multi lamellar* (VML). Liposom yang dihasilkan kemudian

Tabel 1. Formula Liposom Ekstrak Terpurifikasi *Centella asiatica*

Formula	Ekstrak Terpurifikasi <i>Centella asiatica</i> (mg)	Fosfatidilkolin (mg)
F1	10	40
F2	10	60
F3	10	100

Tabel 2. Formula liposom

Formula	Ekstrak Terpurifikasi <i>Centella asiatica</i> (mg)	Komponen Liposom (mg)	
		Fosfatidilkolin	Kolesterol
FK 1	10	30	30
FK 2	10	20	40
FK 3	10	10	50

disonikasi selama 15 menit untuk menghomogenkan ukurannya menjadi vesikel ukuran kecil [7,9,16]. Formula liposom ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2. Rasio komponen liposom kombinasi kolesterol didasarkan pada perbandingan komponen liposom formula 2 (1:6).

Pemeriksaan Organoleptis Liposom

Liposom yang terbentuk diamati secara visual dengan latar belakang warna gelap/hitam [6,17]. Jika kekeruhan memiliki bayangan kebiru-biruan menunjukkan partikel sampel berada dalam kondisi homogen sedangkan kekeruhan dengan warna kelabu mengindikasikan terdapat dispersi nonliposomal di dalam dispersi [17].

Evaluasi Morfologi Menggunakan Scanning Electrone Microscopy

Dispersi liposom Formula 1, 2 dan 3 di teteskan 1 tetes pada *carbon tape conductor* yang telah dibagi tiga. Lalu dikeringkan di dalam wadah kedap berisi *silica gel* selama 2 hari [3,16,18-20]. Dispersi kering liposom dilihat menggunakan alat SEM (Hitachi S-3400N). Morfologi liposom menunjukkan bentuk bulat seperti bola [16].

Hasil dan Diskusi

Pada penelitian ini dibuat liposom menggunakan fosfatidil kolin dengan dan tanpa kolesterol. Pada pembuatan liposom diperoleh dispersi liposom berwarna putih susu dan berbau seperti telur (Gambar 1). Setelah disimpan selama 1 minggu, dispersi liposom mengendap

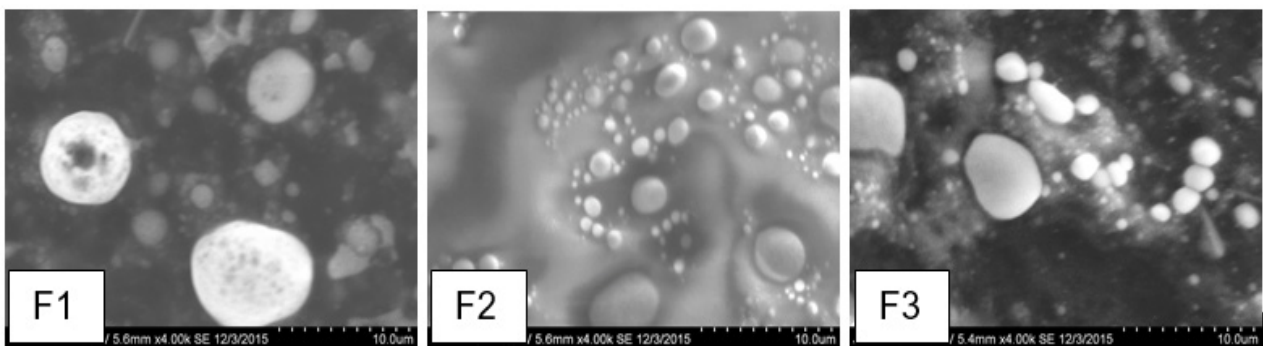
dan dapat dengan mudah didispersikan kembali dengan pengocokan biasa. Warna putih susu pada dispersi mengindikasikan terbentuknya liposom [6,17]. Jika terbentuk kekeruhan berwarna kelabu berarti terbentuk dispersi nonliposomal [17], dan hal ini tidak terjadi dalam semua formula.

Pada penentuan perbandingan antara ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* dan fosfatidilkolin (Formula pada Tabel 1), diperoleh F2 yang paling mudah dihidrasi dan menghasilkan dispersi liposom yang baik secara visual. Hasil ini juga didukung oleh bentuk morfologi F2 yang lebih baik dari pada F1 dan F3 seperti terlihat pada Gambar 2. Maka perbandingan ekstrak terpurifikasi *Centella asiatica* dan fosfatidilkolin (1 : 6) digunakan pada tahap penelitian selanjutnya yaitu melihat pengaruh penambahan kolesterol sebagai komponen pembentuk liposom terhadap kualitas liposom yang dihasilkan. Lalu berdasarkan formula yang terdapat pada Tabel 2, diperoleh FK1 yang mudah dihidrasi, tidak lengket dan menghasilkan dispersi liposom yang baik secara visual dan tidak menggumpal. Hasilnya didukung oleh hasil pemeriksaan SEM (Gambar 3). Sedangkan FK 2 dan FK 3 sulit dihidrasi dan membentuk agregat. Hal ini mungkin disebabkan terlalu banyak kolesterol dalam komposisi pembentukan liposom.

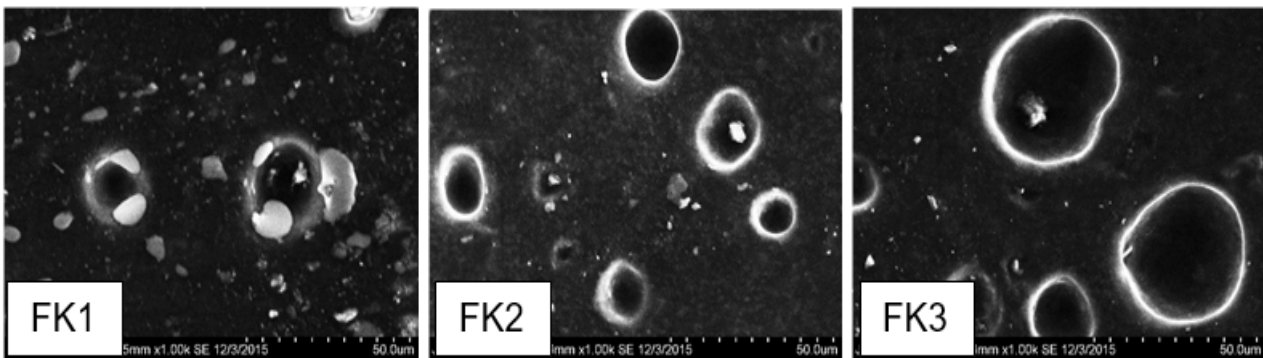
Kemudian bila kita bandingkan antara liposom tanpa kolesterol dan liposom yang mengandung kolesterol secara visual, maka vesikel liposom yang mengandung kolesterol tidak mengalami perubahan warna setelah disimpan selama 6 bulan, sedangkan yang tidak mengandung kolesterol, warnanya menjadi kekuningan. Perubahan warna terjadi karena peristiwa oksidasi fosfolipid. Hasil oksidasi akan



Gambar 1. Dispersi Liposom bewarna putih susu setelah proses hidrasi



Gambar 2. Morfologi dispersi liposom (F1, F2, F3) menggunakan SEM pada perbesaran 2000x



Gambar 3. Morfologi dispersi liposom (FK1, FK2, FK3) menggunakan SEM pada perbesaran 1000x

terlihat nyata pada liposom yang tidak mengandung kolesterol. Liposom akan mengalami pemisahan dan perubahan warna pada rentang waktu 90 hari [21,22].

Kesimpulan

Dispersi liposom TECA yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah berwarna putih buram seperti susu dan berupa globul bulat / sferis pada pemeriksaan menggunakan SEM. Perbandingan antara TECA dan fosfatidilkolin yang baik adalah 1 : 6. Penambahan

kolesterol pada komponen pembentuk liposom dapat mencegah perubahan warna (kerusakan) liposom pada penyimpanan selama 6 bulan.

Referensi

- [1] Kparissides, C., Alexandridou, S., Kotti, K., & Chaitidou, S. Recent advances in novel drug delivery systems. *Journal of Nanotechnology Online*, 2006;2 :1-11.
- [2] Laouini, A., Jaafar-Maalej, C., Limayem-Blouza, I., Sfar, S., Charcosset, C., & Fessi, H. Preparation, characterization and applications of liposomes: state of the art. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 2012;1(2): 147-68.

- [3] Shashi, K., Satinder, K., & Bharat, P. A Complete Review on : Liposomes. *International Research Journal Of Pharmacy*. 2012; 3(7): 10-16.
- [4] Wasankar, S. R., Deshmukh, A. D., Ughade, M. A., Burghat, R. M., Gandech, D. P., Meghwani, R. R., & Faizi, S. M. Liposome as a Drug Delivery System-A Review. *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology*, 2012;4(2): 104-12.
- [5] Sharma, A., & Sharma, U. S. Liposomes in drug delivery: progress and limitations. *International Journal of Pharmaceutics*, 1997;154(2): 123-40.
- [6] Popovska, O. An Overview: Methods for Preparation and Characterization of Liposomes as Drug Delivery Systems. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 2014;3(3): 13-20.
- [7] Dua, J. S., Rana, A. C., & Bhandari, A. K. Liposome: methods of preparation and applications. *Int J Pharm Stud Res*, 2012;3(2): 14-20.
- [8] Lasic, D. D. *Handbook of biological physics*, Vol. 1). California: Elsevier. 1995.
- [9] Chen, J., Lu, L., Gao, S., Lin, H., Wei, S., Zhang, Y., Gu, J., Lin, H., Guan, Fei., Li, H., Gao, S., Wei, S., Zhong, Y., Ma, Laiji., Wang, W., Lu, L., Shi, Q. U.S. Patent Application 10/544,088. 2004.
- [10] Rangasamy, M., Ayyasamy, B., Raju, S., Gummadevelly, S., & Shaik, S. Formulation and in vitro evaluation of niosome encapsulated acyclovir. *J. Pharm. Res.* 2008; 1(2): 163-66
- [11] Aukunuru, J., Joginapally, S., Gaddam, N., Burra, M., Bonepally, C., & Prabhakar, K. Preparation, characterization and evaluation of hepatoprotective activity of an intravenous liposomal formulation of bis-demethoxy curcumin analogue (BDMCA). *Int. J. Drug Dev. Res.*, 2009;1(1): 37-46.
- [12] Murray, V., & Shaw, D. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants (Volume 1)*. Geneva: WHO. 2000.
- [13] Herbal Medicinal Products Committee (HMPC). Assessment report on Centella asiatica (L.) Urban, herba No. 291177. *Science Medicines Health*. European Medicines Agency, 2010;1-44.
- [14] Roy, D. C., Barman, S. K., & Shaik, M. M. Current updates on Centella asiatica: Phytochemistry, pharmacology and traditional uses. *Medicinal Plant Research*, 2013;3(4): 20-36.
- [15] Hong, S. S., Kim, J. H., Li, H., & Shim, C. K. Advanced formulation and pharmacological activity of hydrogel of the titrated extract of C. asiatics. *Archives of pharmacal research*, 2005;28(4): 502-8.
- [16] Dhule, S. S., Penfornis, P., Frazier, T., Walker, R., Feldman, J., Tan, G., He, J., Alb, A., John, V. & Pochampally, R. Curcumin-loaded γ -cyclodextrin liposomal nanoparticles as delivery vehicles for osteosarcoma. *Nanomedicine: NBM*, 2012;8(4): 440-51.
- [17] Anwekar, H., Patel, S., & Singhai, A. K. Liposome as drug carriers. *Int. J. Pharm. Life Sci.*, 2011; 2(7): 945-51
- [18] Ozer, A. Y. *Nanomaterials and nanosystems for biomedical applications*. Netherlands: Springer. 2007.
- [19] Chetanachan, P., Akarachalanon, P., Worawirunwong, D., Dararutana, P., Bangtrakulnonth, A., Bunjop, M., & Kongmuang, S. Ultrastructural characterization of liposomes using transmission electron microscope. *Adv. Mat. Res.*, 2008; 55: 709-11.
- [20] Ramadhani, H. Pengaruh Penambahan Asam Oleat Terhadap Sensitivitas Liposom pada Berbagai Kondisi pH dan Penjerapan Spiramisin oleh Liposom. (Skripsi). Depok: Universitas Indonesia, 2011.
- [21] Ola, H., Yahya, S.A., El-Gazayerly, O.N., Effect of formulation design and freeze-drying on properties of fluconazole multilamellar liposomes, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2010; 18(4): 217-24.
- [22] De, A., Venkatesh, D.N., Design and evaluation of liposomal delivery system for L-Asparaginase, *J. Applied Pharm. Sci.*, 2012; 2(8): 112-17.



Copyright © 2018 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)