

REVIEW : FORMULASI DAN KARAKTERISASI FITOSOM- EKSTRAK HIDROFILIK & HIDROFOBİK : METODE HIDRASI LAPIS TIPIS DAN PENGUAPAN PELARUT

REVIEW : FORMULATION AND CHARACTERIZATION PHYTOSOME-EXTRACT HYDROPHYLIC & HYDROPHOBIC : THIN LAYER HIDRATION & SOLVENT EVAPORATION METHODE

Siti Fauziyah ZD Sutisna^{1*}, Anis Yohana Chaerunisaa¹

¹*Program Studi Magister Farmasi, Departemen Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Sumedang, Jawa Barat, Indonesia 45363*

*Email Corresponding: siti21053@mail.unpad.ac.id

Submitted : 16 May 2022

Revised : 8 June 2022

Accepted : 27 June 2022

ABSTRAK

Penggunaan obat tradisional dalam memelihara kesehatan telah dilakukan sejak zaman dahulu hingga saat ini. Banyak ekstrak tumbuhan telah diketahui komposisi kimia dan efek terapeutiknya. Namun keterbatasan dari phytonkonstituen seperti kelarutan dan masalah penyerapan yang rendah, dan ukuran molekul yang besar membatasi penyerapannya melintasi membran lipid biologis. Sehingga berdampak pada bioavailabilitas yang rendah. Fitosom merupakan teknologi yang diperkenalkan untuk mengatasi rendahnya penyerapan bahan aktif alam, sehingga terjadi peningkatan bioavailabilitas karena peningkatan kemampuannya untuk melintasi membran seluler dan masuk ke dalam sirkulasi darah. Tinjauan ini bertujuan untuk memaparkan fitosom dalam system penghantaran obat terutama fitokonstituen beserta metode formulasi fitosom-fitokonstituen dan karakterisasinya. Metode penguapan pelarut meliputi jumlah ekstrak dan fosfolipid dengan rasio perbandingan 1:1, 1:2, 1:3 dilarutkan dalam pelarut organik lalu dilakukan reflux untuk menguapkan pelarut, residu yang dihasilkan ditambahkan pelarut non polar, disaring dan dikeringkan lalu disimpan di suhu kamar. Metode Hidrasi Lapis tipis meliputi persiapan kompleks ekstrak-fitosom dengan jumlah rasio 1:5 ditambahkan pelarut polar, diaduk dengan *stirrer* lalu pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator*, lapisan film yang terbentuk ditambahkan buffer lalu di-*ultrasonikasi* dan didinginkan selama maksimal 24 jam. Karakterisasi kompleks fitosom yang terbentuk meliputi penentuan ukuran dan distribusi ukuran vesikel, efisiensi penyerapan, bentuk vesikel, zeta potential dan uji pelepasan In-vitro. Metode Hidrasi Lapis Tipis dan Penguapan pelarut dapat digunakan pada formulasi fitosom-ekstrak hidrofilik atau hidrofobik, berdasarkan hasil karakterisasi yang diperlihatkan, peningkatan konsentrasi dan kecepatan rotasi, cenderung memperbesar ukuran vesikel, namun pada level kecepatan tertentu, ukuran vesikel menurun. Tingginya rasio fosfolipid pada sistem vesikular meningkatkan kemampuan efisiensi terjerapnya ekstrak hidrofilik begitupun hidrofobik. Vesikel yang terbentuk berupa bulatan sperik tanpa adanya agregasi. Zeta potensialnya mencapai -11,9 mV dan -44,5 mV untuk ekstrak hidrofilik dan hidrofobik. Bentuk kompleks fitosom-ekstrak mampu menurunkan laju pelepasan obat dengan profil pelepasan yang diperpanjang. Kompleks fitosom-hidrofobik ekstrak, terjadi penurunan tegangan permukaan obat setelah 24 jam berakibat peningkatan laju yang lebih tinggi.

Kata kunci : Fitosom, Hidrofilik, Hidrofobik, Formulasi, Karakterisasi

ABSTRACT

The use of traditional medicine in maintaining health has been carried out since ancient times until today. Many plant extracts have known chemical composition and therapeutic effects. However limitations of the phytoconstituents such as low solubility and absorption problems, and large molecular size limit their absorption across biological lipid membranes. This results in low bioavailability. Phytosomes are a technology introduced to overcome the low absorption of natural active ingredients, resulting in increased bioavailability due to their increased ability to cross cellular membranes and enter the blood circulation. This review aims to describe the phytosomes in the drug delivery system, especially phytoconstituents along with the phytosome-phytoconstituent formulation methods and their characterization. The solvent evaporation method includes the amount of extract and phospholipids with a ratio of 1:1, 1:2, 1:3 dissolved in an organic solvent then reflux is carried out to evaporate the solvent, the resulting residue is added with a non-polar solvent, filtered and dried and then stored at room temperature. The thin layer hydration method includes the preparation of a phytosome-extract complex with a ratio of 1:5 added polar solvent, stirred with a stirrer and then the solvent is evaporated using a rotary evaporator, the film layer formed is added with buffer and then ultrasonicated and cooled for a maximum of 24 hours. The characterization of the phytosome complex formed included determining the size and distribution of vesicle size, entrapment efficiency, vesicle shape, zeta potential and In-vitro release test. Thin-layer hydration and solvent evaporation methods can be used in hydrophilic or hydrophobic phytosome-extract formulations, based on the characterization results shown, increasing concentration and rotational speed tend to increase vesicle size, but at a certain speed level, vesicle size decreases. The high ratio of phospholipids in the vesicular system increased the efficiency of the absorption of hydrophilic and hydrophobic extracts. The vesicles formed are spherical spheres without any aggregation. Zeta potential reached -11.9 mV and -44.5 mV for hydrophilic and hydrophobic extracts. The form of the phytosome-extract complex was able to reduce the rate of drug release with a profile extended release. Phytosome-hydrophobic complex extract, a decrease in drug surface tension after 24 hours resulted in a higher rate increase.

Keywords: Phytosomes, Hydrophilic, Hydrophobic, Formulation, Characterization

PENDAHULUAN

Pemeliharaan Kesehatan menggunakan obat tradisional dan Phytomedicine telah dilakukan dari sejak zaman dahulu dan sampai hari ini, penggunaan phytomedicine tersebar luas di sebagian besar populasi negara di dunia.(Giriraj 2014). Banyak ekstrak tumbuhan yang telah diuji secara kimia maupun farmakologinya sehingga diketahui komposisi kimia dan kegunaan terapeutiknya. Efek terapeutik phytomedicine yang rendah disebabkan adanya keterbatasan dari phytokonstituen seperti ketidakstabilan dalam pH yang sangat rendah, metabolisme pra sistemik di hati, kelarutan dan masalah penyerapan yang rendah, disebabkan polaritas molekul phytomedicine, kelarutan lipid yang buruk dan ukuran molekul yang besar- membatasi penyerapan melalui difusi pasif dan membatasi kemampuan melintasi membrane lipid biologis. Sehingga berdampak pada bioavailabilitas dan indeks terapi yang rendah.(Manach et al. 2004b)

Herbosom atau juga dikenal dengan fitosom merupakan teknologi yang diperkenalkan untuk mengatasi rintangan penyerapan bahan aktif alam, fitokonstituen hidrofilik diubah menjadi hidrofobik atau komponen larut lipid sehingga terjadi peningkatan bioavailabilitas karena peningkatan kemampuannya untuk melintasi membran seluler dan masuk ke dalam sirkulasi darah.(Berry, Guest, and Naved 2016) Adanya peningkatan aktivitas farmakokinetik dan farmakodinamik menjadikan fitosom sebagai formulasi ideal dalam mengobati banyak penyakit akut dan kronis, baik dalam bentuk sediaan farmasi maupun dalam sediaan kosmetik.(Sanjib Bhattacharya 2009) Fitokonstituen dengan sifat fisiko-kimia yang buruk, seperti polaritas tinggi, kelarutan air rendah atau liposolubility yang menyebabkan absorpsi oral yang rendah, iritasi pada gastrointestinal, sehingga membatasi aktivitas farmakologinya dapat dikombinasi dengan phospholipid membentuk kompleks fitokonstituen- fosfolipid.(Bombardelli et Al. 1992)

Fosfatidilkolin (PC)-derivat Soya kedelai (*Glycine max*)- phospholipid yang umum digunakan dalam sintesis fitosom.([Sanjib Bhattacharya 2009](#)) Sebagai molekul amphipilik, PC larut dalam air dan lipid sehingga mampu diserap dengan baik saat diberikan secara oral, dengan fosfatidil bersifat lipofilik dan kolin bersifat hidrofilik.([Berry, Guest, and Naved 2016](#)) Aktivitas fitosom dalam memberikan efek klinis tergantung pada konsentrasi PC dan dosis fitokonstituen, selain sebagai phospholipid, PC memiliki aplikasi klinis sebagai hepatoprotektor baik akut maupun kronik, untuk pengobatan intravena fat embolism pada pasien dengan polytraumatized dengan gangguan metabolisme.([Berry, Guest, and Naved 2016](#))

Pada tahun 1961, Dr Alec D. Bangham menjelaskan Liposom untuk pertama kali, adalah suatu phospholipid, lipid bilayer berbentuk vesikel spheric tertutup dimana materi genetic dan obat terenkapsulasi. Struktur ini sangat unik dimana obat hidrofilik akan terenkapsulasi dalam core sedangkan yang bersifat hidrofobik akan terperangkap dalam lipid bilayer. Liposom menyediakan obat dengan pelepasan terkontrol melalui metode fusi atau endositosis ke dalam sel sehingga melindungi obat dari degradasi enzim serta mengurangi efek samping. ([Gamze Güney Eskiler1*, Gökhan Dikmen2 2015](#))

Lipid polar pada liposom mampu merakit diri dan membentuk partikel koloid terorganisir ketika bereaksi dengan molekul air. Bagian Kepala hidrofilik akan mengarah ke kompartemen air sementara ekor lipofilik akan menjauh dari air menuju pusat vesikel dan membentuk bilayer. Sehingga, senyawa terlarut air akan terperangkap dalam kompartemen air dan senyawa larut lipid berkumpul di bagian lipid. ([Bangham 1994](#))

Sifat unik liposom mampu meningkatkan kelarutan zat, bioavailabilitas, penyerapan intraseluler, juga meningkatkan biodistribusinya baik secara in vitro dan in vivo. Sehingga sebagai system penghantar obat, liposom mampu meningkatkan efek terapeutik serta keamanan obat dan menghantarkan obat ke tempat aksinya juga mampu mempertahankan efek terapeutiknya untuk jangka waktu yang lama. ([Ajazuddin and Saraf 2010](#))

Sebagai merk dagang terdaftar dari Indena S.P.A, Italia, teknologi fitosom dikembangkan dengan menggabungkan ekstrak tumbuhan atau fitokonstituen larut air dan lipofilik fosfolipid sehingga terbentuk kompleks fitokonstituen-fosfolipid yang lebih absorbable sekaligus meningkatkan bioavailabilitasnya.([Berry, Guest, and Naved 2016](#))

Fitosom merupakan gabungan antara fosfolipid dan molekul obat yang mampu meningkatkan karakteristik fisikokimia obat. Fitosom sebagai supramolekul yang kompatibel dengan kompleks lipid-obat; sekali tersebar dalam media air, mereka akan berkumpul menjadi struktur vesikular yang mirip dengan liposom namun dengan lokalisasi obat yang berbeda.([Hou et al. 2012](#))

Perbedaan karakteristik antara liposom dan fitosom, pada liposom bagian kolin tidak membentuk ikatan kimia dengan molekul yang larut air, molekul fosfatidilkolin menyelimuti zat menciptakan lapisan ganda lipid yang mengelilingi inti yang mengandung molekul yang larut dalam air. Pada fitosom, bagian kolin terikat secara kimia melalui ikatan hidrogen dengan fitokonstituen yang secara efektif mengikatnya ke dalam membrane menghasilkan pembentukan rasio 2:1 atau 1:1 antara fosfatidilkolin dan fitokonstituen.([Berry, Guest, and Naved 2016](#))

Fitosom memiliki keunggulan sebagai berikut: ([Sanjib Bhattacharya 2009](#))

Menunjukkan adanya bioavailabilitas yang lebih baik karena terjadi peningkatan penyerapan lipid tidak larut polar dari phytoconstituents baik melalui rute oral serta rute topical sehingga secara signifikan memberikan efek terapeutik yang lebih besar. Ketika penyerapan aktif konstituen meningkat, maka kebutuhan dosis berkurang. Pada preparasi fitosom digunakan Phosphatidylcholine, selain sebagai bahan pembawa juga berperan sebagai hepatoprotektif, sehingga memberikan efek sinergis ketika digunakan zat hepatoprotektif. Terbentuknya ikatan kimia antara molekul phosphatidylcholine dan phytoconstituent, menunjukkan profil stabilitas yang lebih baik.

Asam fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam sebagian besar fitokimia ekstrak tanaman, larut dalam air dan memiliki berat molekul besar, ([Semalty, Semalty, and Rawat 2007](#)) menjadi dalam masalah ketidakmampuannya untuk melintasi membrane lipid usus dan ini berdampak pada bioavailabilitasnya yang rendah. ([P. Rathee, Kamboj, and Sidhu 2016](#)) Ekstrak lidah buaya, antara lain mengandung mineral, vitamin, asam amino, sakarida, enzim, lignin, antrakuinon, asam salisilat, dan saponin. Telah diidentifikasi dan dievaluasi zat yang

bertanggung jawab atas efek terapi yang dimiliki lidah buaya, namun adanya interaksi sinergis antara senyawa bertanggung jawab atas efek terapinya, (Maenthaisong et al. 2007) contoh lain adalah Ekstrak Manjistha (*Rubia cordifolia* Linn.) sebagai sumber penghasil antrakuinon. (P. Rathee, Kamboj, dan Sidhu 2016) ekstrak akarnya mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, asam karboksilat, polifenol, dan antrakuinon (misalnya, purpurin, molugin, rubiadin, dan munjistin), memiliki berat molekul tinggi dan kelarutan lipid yang rendah juga menyebabkan penyerapan yang buruk. (Taleuzzaman et al. 2021) Ekstrak lidah buaya larut dalam air sehingga fitokonstituennya dapat diubah menjadi komponen yang larut dalam lemak dengan memasukkannya ke dalam fitosom (Jain et al. 2021).

Penggunaan fosfolipid pada system penghantaran obat, selain sebagai pembawa juga memiliki khasiat klinis sebagai hepatoprotektor, sehingga menghasilkan efek sinergis ketika dikombinasikan bersama fitokonstituen dengan efek terapi sejenis. Pembentukan ikatan hidrogen antara fosfolipid polar dan polar dari fitokonstituen adalah interaksi utama yang terjadi. Ikatan ini membuat fitosom sebagai formula memiliki stabilitas yang lebih baik dibandingkan dengan liposom. (Maryana, Rachmawati, and Mudhakir 2016) Selain itu, ukuran partikel yang diperkecil dapat meningkatkan laju disolusi dan kelarutan serta berkolerasi pada peningkatan kinerja in vivo, sehingga sistem penghantaran obat skala nano memiliki banyak keunggulan dibandingkan metode konvensional. (Semalty et al. 2010)

Metabolit sekunder dari ekstrak tanaman dapat diklasifikasikan berdasarkan kesamaan struktur, jalur biosintetik, sifat kelarutan, atau jenis tanaman yang menghasilkannya. (Gershenzon and Mabry 1983) Silybin merupakan komponen aktif silymarin. Waktu paruh 1-3 jam. Secara oral diserap 20-30% di saluran pencernaan. Metabolisme fase kedua yang luas, permeabilitas menembus sel epitel usus yang rendah, kelarutan rendah dalam air dan lemak, sehingga bioavailabilitas nya rendah serta ekskresi yang cepat melalui urin dan empedu. (Javed, Kohli, and Ali 2011) Beberapa upaya untuk meningkatkan bioavailabilitas silymarin melalui rute oral adalah dengan kompleksasi -siklodekstrin, modifikasi kimia menjadi prodrug, mikronisasi, tablet, dan penggunaan mikrosfer, nanopartikel, liposom, serta fitosom sebagai sistem pengiriman tertarget. (Semalty et al. 2010)

Silymarin merupakan flavonolignan, senyawa flavonoid unik yang berasal dari tanaman milk thistle (*Silybum marianum*) berfungsi sebagai hepatoprotektor juga menunjukkan berbagai aktivitas biologis dan farmakologis seperti antioksidan, dan memiliki efek antikanker terhadap sel karsinoma manusia (Maryana, Rachmawati, and Mudhakir 2016)

Secara klinis, *Silybum marianum* L. Gaernt. digunakan untuk mengatasi masalah liver dan empedu, (Abenavoli et al. 2010) banyak hasil penelitian membuktikan aktivitas hepatoprotektor *Silybum marianum*. (Salmi and Sarna 1982), (Szilard, Szentgyörgyi, and Demeter 1988), (Feher et al. 1989) Pada 1970-an WHO mengklasifikasikan ekstrak buah Silymarin sebagai obat herbal resmi dengan fungsi hepatoprotektor. (Wesołowska et al. 2007) Flavonolignans, flavonoid, 5,7-dihidroksi kromon, dehydroconiferyl alcohol, fixed oil, tokoferol, sterol, gula, dan protein merupakan komposisi kimia Silymarin, dengan Silybin sebagai komponen bioaktif utama-nya yakni sekitar 50-70% kandungan ekstrak. (Lee, Narayan, and Barrett 2007) Dikonfirmasi bahwa selain sebagai hepatoprotektor, silybin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan mampu memodulasi pengurangan mediator pro- inflamasi, (Federico, Dallio, and Loguercio 2017) selain berfungsi juga sebagai anti kanker yang potensial. (Bijak 2017)

METODE PENELITIAN

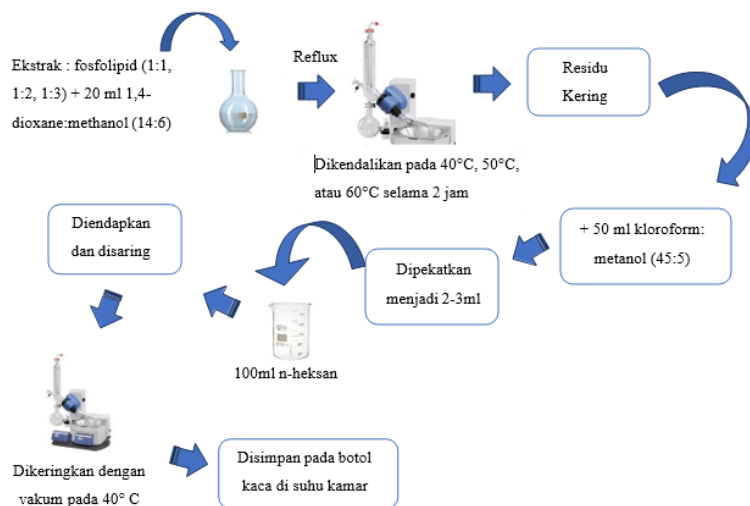
Prosedur Penelitian

Pada proses formulasi fitosom terdapat beberapa metode antara lain : presipitasi antisolvent, evaporasi putar, evaporasi pelarut, injeksi eter, dan liofilisasi kosolvent anhidrat. Dengan Langkah-langkah sebagai berikut : (1) pencampuran biomaterial, (2) pembuatan larutan kliring biomaterial dengan fosfolipid atau pelarut anorganik, (3) penguapan pelarut dan pembentukan lapisan tipis, (4) hidrasi, dan (5) sonikasi (Karimi et al. n.d.)

Preparasi fitosom meliputi kombinasi antara soya lesitin dengan ekstrak terstandar yang pada umumnya mengandung senyawa polifenolik dengan tujuan peningkatan absorpsi dan pemanfaatannya. (Patil et al. n.d.)

Preparasi Ekstrak-phytosome: (Telange et al. 2016; Molaveisi et al. 2021)

A. Metode Solvent Evaporation (Sikarwar et al. 2008) (Jain et al. 2021)



Gambar 1. Prosedur Preparasi Kompleks Fitosom dengan Metode Penguapan Pelarut

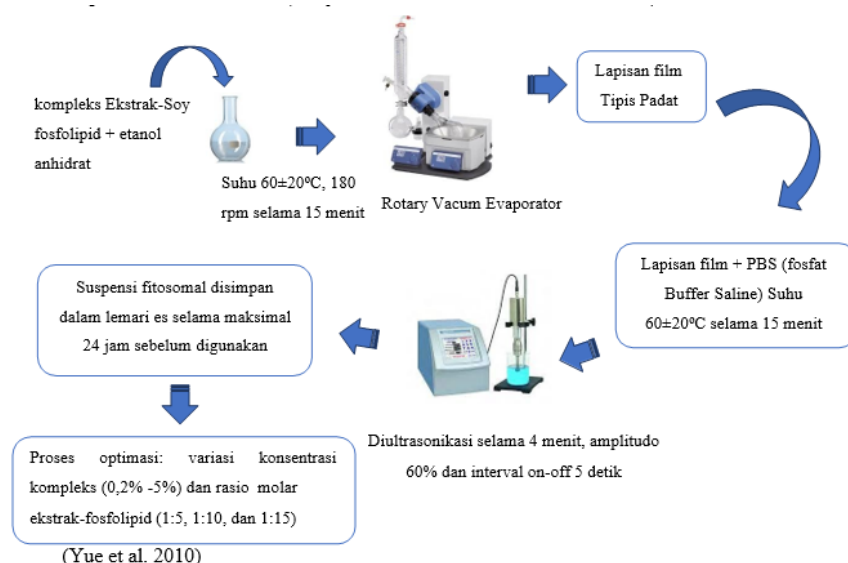
B. Vesikel fitosom dibuat dengan metode lapisan tipis menggunakan rotary evaporator vakum (Maryana, Rachmawati, and Mudhakir 2016)

Preparasi ekstrak-fosfolipid complex



Gambar 2. Prosedur Preparasi Kompleks Fitosom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis

Preparasi Esktrak-Fitosom (Maryana, Rachmawati, and Mudhakhir 2016)



Gambar 3. Prosedur Preparasi Fitosom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis

Proses preparasi kompleks ekstrak tumbuhan dengan fosfolipid pada umumnya dilakukan dengan teknik penguapan pelarut menggunakan pelarut alkohol atau organik sebagai media reaksi. (Li et al. 2008) Pada teknik penguapan pelarut, ekstrak dan fosfolipid ditempatkan pada labu yang sama labu berisi sistem pelarut yang sesuai seperti tetrahidrofur atau etanol. Prosesnya dapat dilakukan pada titik tetap pada suhu dan durasi tetap untuk mendapatkan hasil efesiensi terjerap yang maksimum. (Maiti et al. 2010) (Murugan et al. 2009) (Jain Sanjay 2012)

Karakterisasi kompleks ekstrak-fitosom dilakukan melalui : (Khan et al. 2013)

- A. Penentuan ukuran dan distribusi ukuran vesikel
Untuk mempelajari ukuran vesikel dan Poli Dispersivity Index (PDI), digunakan Zetasizer 1000HS (Malvern Instruments, UK) berdasarkan prinsip dynamic light scattering. Sampel dilarutkan dalam air destilasi, ditempatkan pada kuvet dan dianalisis pada sudut 90° (Bisht et al. 2017). Seluruh batch dianalisis sebanyak 3 kali kemudian dihitung rata-rata dan Standar Deviasi.
- B. Efisiensi Penjerapan (Y. T. Zhang et al. 2014)
Untuk menentukan efisiensi penjerapan dari fitosom, digunakan metode ultrasentrifugasi. Larutan formulasi disentrifugasi pada 15,000 rpm and 4°C selama 0,5 jam. Supernatan dikumpulkan dan jumlah obat bebas ditentukan menggunakan UV spectrometer pada 271 nm. Efisiensi penjerapan dihitung menggunakan rumus :

$$\frac{\text{Total drug} - \text{Amount of unentrapped drug}}{\text{Total amount of drug added in the formulation}} \times 100$$
- C. Bentuk vesikel
Untuk mempelajari bentuk vesicular dari fitosom yang dioptimasi, digunakan TEM. Sampel formulasi kering ditempatkan pada kisi berlapis karbon dan diwarnai oleh asam posfat tungstate. Kemudian dilihat dibawah mikroskop pada 10-100.000 kali pembesaran pada 200 kV (Bisht et al. 2017)

D. Zeta potential

Zeta potential merupakan parameter penting untuk memprediksi kestabilan formulasi secara partikulat. Zetasizer-1000HS (Malvern Instruments, UK) digunakan untuk menentukan muatan permukaan pada formulasi fitosom (Zhai *et al.* 2015)

E. Uji Pelepasan In-vitro (Zhai *et al.* 2015)

Metode membrane dialysis digunakan untuk mempelajari perbandingan pelepasan dari ekstrak yang disisipkan dalam fitosom (sejumlah 2 mg ekstrak) dan formulasi konvensional (larutan air ekstrak yang memiliki kekuatan yang setara dengan formulasi fitosom).

Kedua formulasi (2ml) ditempatkan pada kantung dialysis (berat molecular 12,000) dan diikat dari kedua ujungnya untuk menghindari terjadinya kebocoran.

Kantung secara terpisah ditenggelamkan pada buffer posfat (25ml) sebagai medium pelepasan dan pengujian dilakukan pada temperature $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Sampel 1mL dikumpulkan pada interval waktu yang telah ditentukan seperti 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12 jam, dan diisi kembali dengan medium segar pada volume yang sama (Jain *et al.* 2020). Sampel yang dikumpulkan pada masing-masing titik waktu dianalisis menggunakan metode spektroskopi UV.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel I. Range konsentrasi lesitin dipilih 0.15-0.25% w/v dan kecepatan rotasi 80- 160 rpm. (Jain *et al.* 2021)

Factors	Levels and ranges		
	-1	0	+1
Conc. of Lecithin (%w/v) (A)	0.15	0.20	0.25
Speed of rotation (RPM) (B)	80	120	160

Hidrasi film lapisan tipis merupakan metode yang terdiri dari dua fase utama, yaitu pembentukan lapisan tipis dengan evaporasi dan hidrasi. Metode ini dipilih karena dianggap sebagai metode yang paling cocok untuk zat aktif yang tidak larut dalam air seperti: silymarin dan apigenin. Metode ini juga relatif mudah diterapkan, dan mampu menghasilkan vesikel yang relatif stabil selama penyimpanan. Produk hasil dipengaruhi beberapa variabel seperti waktu evaporasi, media hidrasi, waktu hidrasi, dan suhu untuk menghasilkan vesikel lipid silymarin dan apigenin dengan atribut yang diinginkan serta rotasi kecepatan labu memberikan pengaruh pada ketebalan dan keseragaman (Venema and Weringa 1988). Kecepatan penguapan optimal dicapai pada 180 rpm, menghasilkan film tipis yang seragam dengan populasi fitosom yang homogen. Proses penguapan dilakukan pada suhu 60°C sedekat mungkin dengan titik gelasi Soyfosfatidilkolin ($44,3^\circ\text{C}$). Dalam penelitian ini, PBS (fosfat buffer saline) pada pH 7,4 diterapkan karena masalah keamanan untuk pemberian oral. Selain itu, adanya garam dalam larutan PBS akan mendukung efektivitas self-assembly fosfolipid untuk membentuk sistem vesikular. (Maryana, Rachmawati, dan Mudhakir 2016)

Untuk fitokonstituen larut air, molekul obat larut air terperangkap di dalam inti air atau dalam kompartemen berair pada multilamellar liposom. Sedangkan kompleks fitosom- obat terjadi secara selaras secara elektrostatis dengan adanya ikatan hydrogen yang terbentuk dengan gugus polar fosfolipid. (Freag, Elnaggar, and Abdallah 2013) Sehingga molekul obat harus memiliki polaritas tertentu dan gugus fungsional yang memadai sehingga tidak semua obat larut air dapat disisipkan ke dalamnya, misalnya gugus COOH, OH, NH₂, -NH- atau =NH sebagai

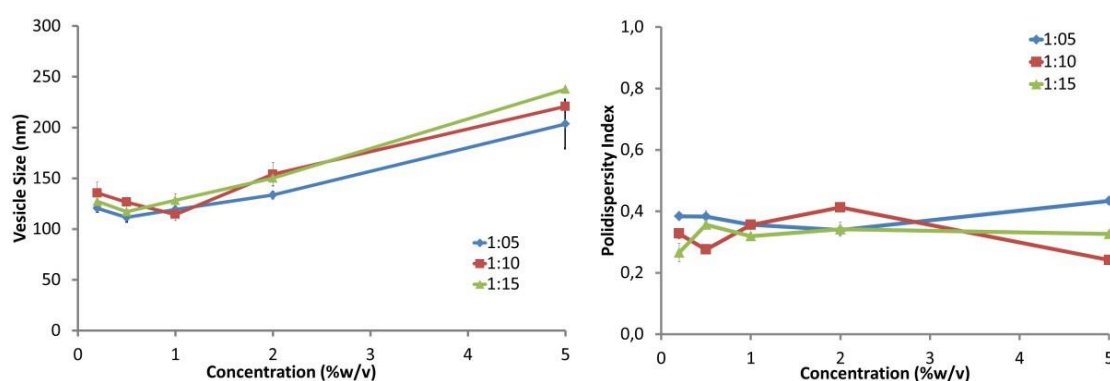
platform interaksi elektrostatik dan ikatan hidrogen dengan gugus polar fosfolipid. (Hou et al. 2012)

Tabel II. Matriks Design menggambarkan hasil Eksperimental dan Nilai dari Respon Variabel meliputi respon variable untuk soy-yang disisipkan fitosom (El-Menshawe et al. 2018).

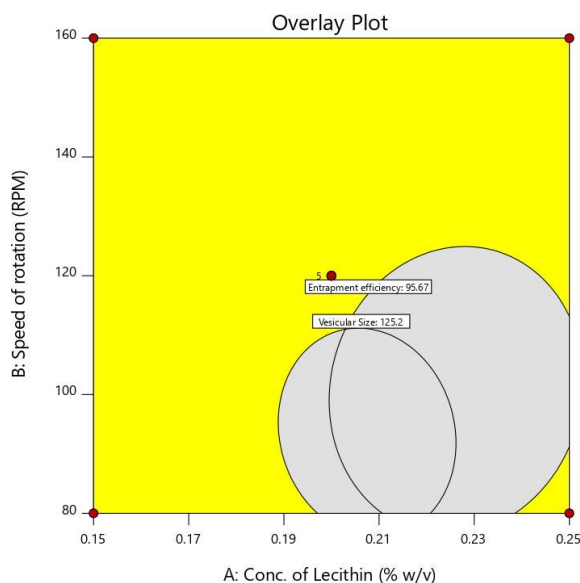
Run	Factor 1, PC %	Factor 2, extract%	Factor 3, method	Response 1,EE (%)	Response 2,PS (nm)	Response 3, R (% within 2 hours)
1	3.00	1.00	Evaporation	99.9297	650.67	81.99
2	1.00	3.00	Evaporation	99.8494	182.96	83.18
3	3.00	3.00	Evaporation	99.9900	667.24	85.67
4	1.00	1.00	Evaporation	99.7388	51.660	77.61
5	3.00	3.00	Cosolvency	99.9638	369.56	99.78
6	1.00	3.00	Cosolvency	99.9047	81.060	82.32
7	3.00	1.00	Cosolvency	99.9125	285.33	81.15
8	1.00	1.00	Cosolvency	99.8917	63.100	78.86
9	3.00	1.00	Salting	99.8582	422.58	79.75
10	1.00	3.00	Salting	99.8270	282.60	83.85
11	3.00	3.00	Salting	99.9716	466.06	92.43
12	1.00	1.00	Salting	99.7934	281.86	79.57

Abbreviations: EE, entrapment efficiency; PC, phosphatidylcholine; PS, particle size; R, drug release percentage.

Sharhira et al melaporkan, preparasi ekstrak hidrofilik, Soybean, G. max (L.) – fitosom menggunakan metode Solvent Evaporation, Cosolvensi, dan Salting Out memberikan nilai efisiensi keterjerapan, berturut-turut 99,93%, 99,91%, dan 99,86% tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiganya. Pada konsentrasi fosfatidilkolin dan ekstrak yang sama diperoleh ukuran partikel 650.67 nm, 285.33 nm dan 422,58 nm, terdapat perbedaan nilai ukuran partikel diantara ketiga metode yang digunakan. Dan nilai pelepasan obat diperoleh 81.99%, 81.15%, dan 79,75%, terdapat perbedaan hasil namun tidak signifikan. (El-Menshawe et al. 2018)



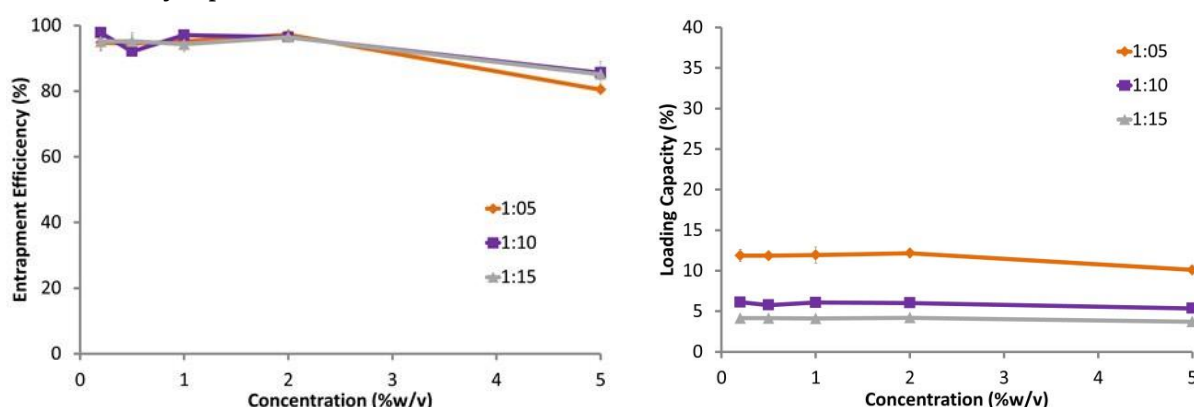
Gambar 4. Pengaruh konsentrasi dan Rasio silymarin: SP pada ukuran vesikel (kiri) dan Polydispersity Index (Kanan) (Maryana et al, 2016)



Gambar 5. Overlay plot generated by design expert software, representing a robust region (yellow) where by selecting a combination of independent variables, the result of dependent variables can be accurately predicted. (Tung, Hai, and Son 2017)

Maryana et al, memaparkan formulasi kompleks silymarin-fosfolipid 0,2% sampai 2% membentuk vesikel dengan ukuran kurang dari 200nm. Adanya peningkatan konsentrasi, akan cenderung meningkatkan ukuran vesikel dan terjadinya tumbukan fisik atau elektrostatis yang lebih jelas sehingga terjadi perubahan pergerakan partikel dan memperbesar ukuran vesikel. Nilai indeks polidispersitas yang diperoleh rendah yaitu kurang dari 0,5 yang menunjukkan keseragaman dan homogenitas ukuran vesikel dalam system. (Maryana, Rachmawati, and Mudhakir 2016) Jain menjelaskan dari hasil karakterisasi formulasi aloe vera-fitosom, respon plot permukaan mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi lesitin, ukuran vesicular meningkat, begitupun dengan peningkatan kecepatan rotasi, namun pada level kecepatan tinggi tertentu, ukuran vesikular menurun. (Tung, Hai, and Son 2017)

Efisiensi Penjerapan



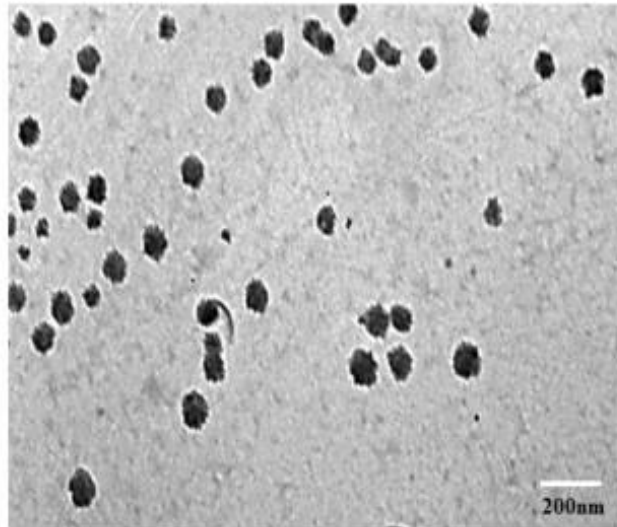
Gambar 6. Konsentrasi dan ratio silymarin: SPC mempengaruhi Entrapment Efficiency (kiri) dan (b) Loading Capacity of phytosome (kanan) (Maryana, Rachmawati, and Mudhakir 2016)

Tabel III. Efek Variabel Formulasi yang dipelajari pada efisiensi Penjerapan (Jain et al. 2021)

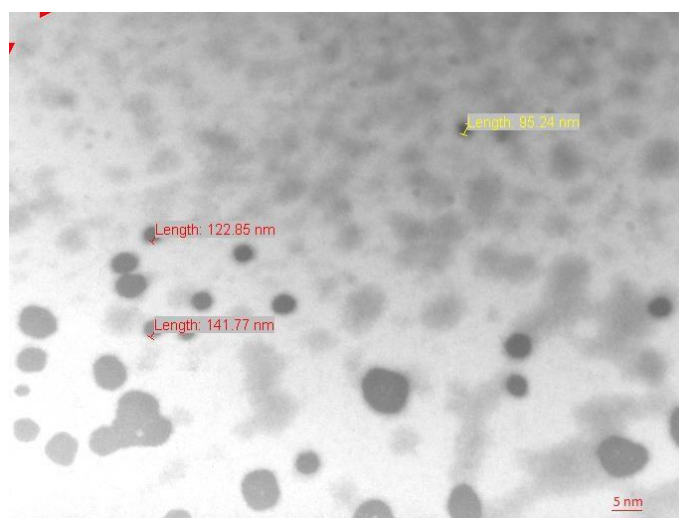
Formulation Code	Factor 1 Conc. Of Lecithin (%w/v)	Factor 2 Speed of rotation (RPM)	Response 1 Vesicular Size (nm) Mean $\pm$ SD) (n=3)	Response 2 Entrapment efficiency (%) Mean $\pm$ SD) (n=3)	PDI (Mean $\pm$ SD) (n=3)
F01	0.15	80	113.32 $\pm$ 1.70	88.43 $\pm$ 1.98	0.81 $\pm$ 0.06
F02	0.2	120	122.4 $\pm$ 2.03	94.8 $\pm$ 0.89	0.84 $\pm$ 0.03
F03	0.25	160	100.18 $\pm$ 1.60	90.7 $\pm$ 0.62	0.71 $\pm$ 0.02
F04	0.2	63.43	122.42 $\pm$ 2.09	93.69 $\pm$ 0.45	0.89 $\pm$ 0.01
F05	0.2	120	124.4 $\pm$ 1.98	94.80 $\pm$ 0.90	0.63 $\pm$ 0.04
F06	0.25	80	119.69 $\pm$ 3.76	95.15 $\pm$ 0.79	0.78 $\pm$ 0.03
F07	0.2	120	125.2 $\pm$ 2.45	94.6 $\pm$ 0.82	0.93 $\pm$ 0.03
F08	0.2	120	122.80 $\pm$ 1.19	95.1 $\pm$ 0.48	0.92 $\pm$ 0.04
F09*	0.2	120	123.1 $\pm$ 1.44	95.67 $\pm$ 0.27	0.98 $\pm$ 0.06
F10	0.2	176.56	99.08 $\pm$ 0.78	85.81 $\pm$ 0.19	0.92 $\pm$ 0.05
F11	0.27	120	108.13 $\pm$ 0.98	93.36 $\pm$ 0.47	0.89 $\pm$ 0.04
F12	0.129	120	103.37 $\pm$ 2.34	83.14 $\pm$ 0.59	0.88 $\pm$ 0.09
F13	0.15	160	99.81 $\pm$ 1.32	82.35 $\pm$ 0.39	0.90 $\pm$ 0.04

Komposisi lipid penyusun membran fitosom mempengaruhi efisiensi penjerapan fitokonstituen dalam sistem vesikular. Tingginya rasio fosfolipid pada sistem vesikular meningkatkan kemampuan efisiensi terjerapnya obat yang tidak larut dalam air. Maryana et al menjelaskan bahwa penggabungan sempurna terjadi pada rasio molar silymarin:fosfolipid berada di atas 1:5. Secara umum, rasio 1:5, 1:10, 1:15 memberikan efisiensi penjerapan optimum (90%) untuk konsentrasi kompleks dalam kisaran 0,2-2%. (Maryana, Rachmawati, and Mudhakhir 2016) Dan efisiensi penjerapan aloe vera mencapai $95.67 \pm 0.27\%$ untuk konsentrasi lechitin 0,2% dan kecepatan rotasi 120 rpm. (Jain et al. 2021)

Bentuk Vesikular (Bisht et al. 2017)



Gambar 7. TEM fotograf CST-phytosomes (F3) dengan 20-fold dilarutkan pada air destilasi ($\times 10,000$). (Tung, Hai, and Son 2017)



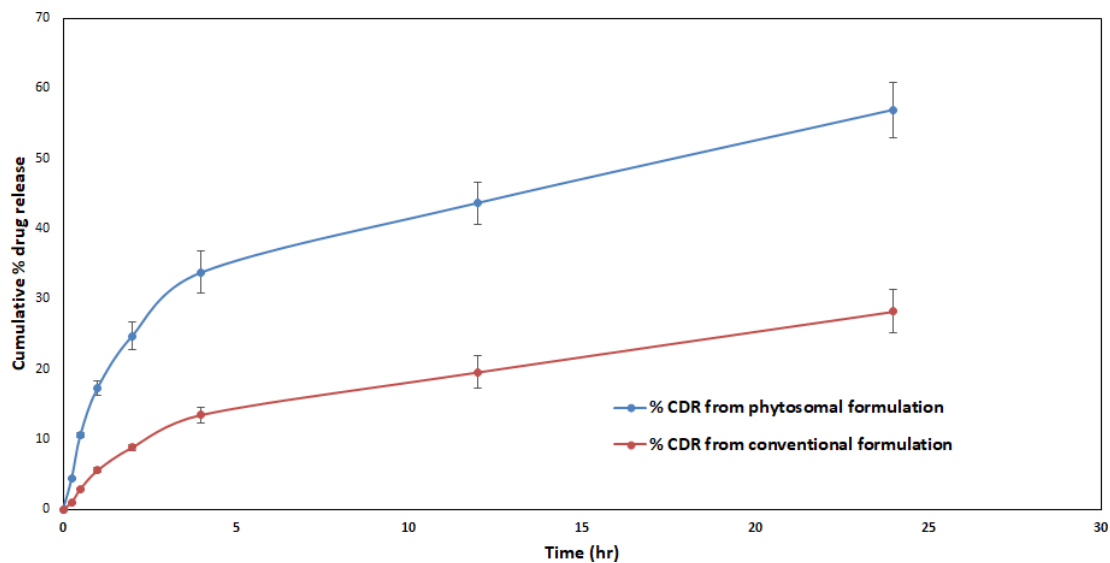
Gambar 8. TEM mikrograf dari formulasi optimum (F09) (Jain et al. 2021)

Freag et al memaparkan gambar Transmission Electron Microscopy (TEM) dari Celastrol-fitosom (CST-PHY) (F3) tampak terdistribusi dengan baik, dan membentuk vesikel sperik, dengan ukuran yang relatif sama tanpa terlihat adanya agregasi. (Freag, Saleh, and Abdallah 2018) Tung et al mengungkapkan hasil mikrograf TEM, dari formulasi optimasi Aloe vera-fitosom membentuk seperti bulatan sperik dengan ukuran mencapai 122,85 nm. (Tung, Hai, and Son 2017)

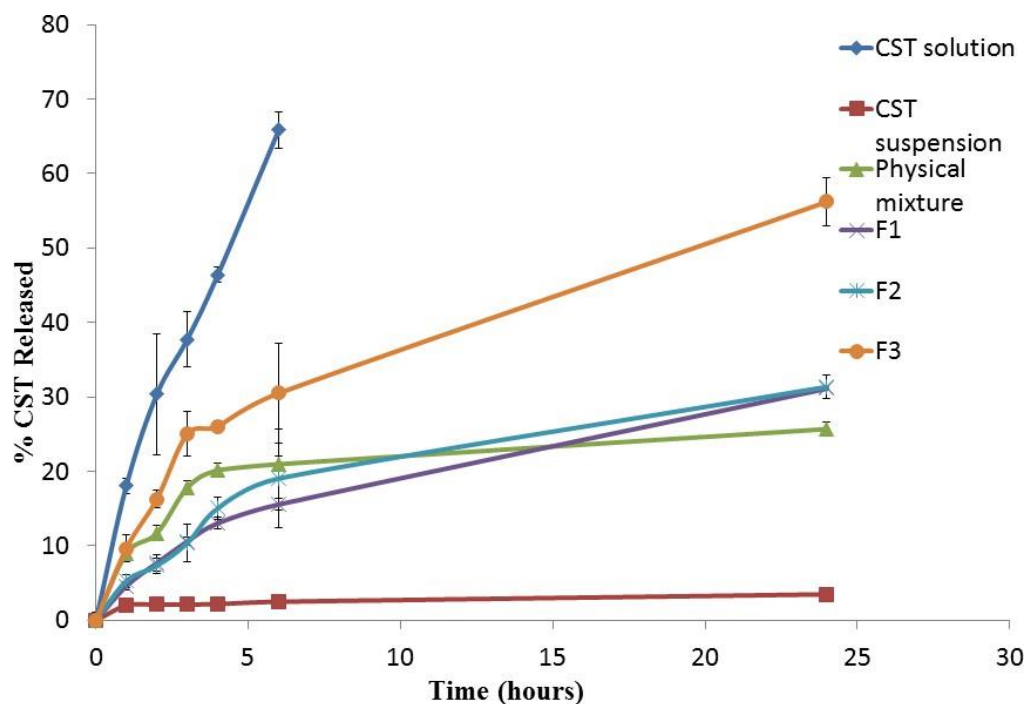
Zeta potential

Jain et al memaparkan pada optimalisasi formulasi ekstrak aloevera-fitosom, potensi zeta ditemukan sebesar -11,9 mV dan kompleks curcumin-fitosom mencapai -44.5 mV (Tung, Hai, and Son 2017), dikatakan memiliki stabilitas baik jika nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV. (Murdock et al. 2008)

Uji Pelepasan In-vitro



Gambar 9. Perbandingan Pelepasan In vitro dari formulasi optimum dengan formulasi konvensional. (Jain et al. 2021)



Gambar 10. Profil pelepasan in vitro larutan CST bebas dalam etanol, Suspensi CST bebas, CST-PHY 1:1 (F1), CST-PHY 1:2 (F2), CST-PHY 1:3 (F3) dan campuran fisik dengan rasio (1:3) menggunakan metode dialysis pada phosphate-buffer saline (PBS) pH 6.8 mengandung 0.25% (w/v) Tween80 pada 100 rpm and 37°C. (Freag, Saleh, and Abdallah 2018)

Jain melaporkan mengenai uji pelepasan in vitro Aloe vera-fitosom, terlihat bahwa pada uji larutan obat bebas, $28,19 \pm 3,02$ % obat dilepaskan sedangkan pada formulasi fitosomal, $56,91 \pm 4,1$ % obat dilepaskan dalam 24 jam. Inisial pelepasan semburan 4% diamati dengan formulasi fitosomal yang dioptimalkan yang mungkin terjadi karena pelepasan obat yang tertahan pada partikel fitosom. (Jain et al. 2021) Freag et al memaparkan bahwa bentuk kompleks fitosom-celastrol menunjukkan sifat pelepasan yang diperpanjang dibandingkan dengan larutan celastrol bebas. Hasil percobaan juga memperlihatkan peningkatan pelepasan celastrol yaitu 25% selama 24 jam dibandingkan terhadap celastrol murni hanya 3.5%. Hal ini dikarenakan keberadaan posfolipid yang mampu meningkatkan tingkat kebasahan obat dengan mengurangi tegangan permukaan antara partikel Celastrol hidrofobik dan medium air. (Freag, Saleh, and Abdallah 2018)

KESIMPULAN

Metode Thin Layer Hidration dipilih karena dianggap sebagai metode yang paling cocok untuk zat aktif yang tidak larut dalam air seperti: silymarin, curcumin, celastrol dan apigenin. Metode ini juga relatif mudah diterapkan, dan mampu menghasilkan vesikel yang relatif stabil selama penyimpanan. Namun penggunaannya pada ekstrak hidrofilik tidak mengurangi karakteristik dan kestabilan kompleks fitosom yang terbentuk, sehingga baik ekstrak hidrofilik maupun hidrofobik dapat diformulasi menggunakan metode preparasi fitosom baik Thin Layer Hidration maupun Solvent Evaporation.

Hasil karakterisasi kompleks fitosom-ekstrak hidrofilik maupun hidrofobik menggunakan metode Thin Layer Hidration atau Solvent Evaporation menunjukkan adanya kompleks fitosom yang memenuhi persyaratan, baik dari segi bentuk vesikel, ukuran, distribusi ukuran vesikel, kestabilan vesikel, efisiensi penjerapan maupun laju pelepasan in vitro.

DAFTAR PUSTAKA

- Abenavoli, L., Raffaele C., Natasa M., and Francesco C. 2010. "Milk Thistle in Liver Diseases: Past, Present, Future." *Phytotherapy Research* 24(10): 1423– 32.
- Ajazuddin, and S. Saraf. 2010. "Applications of Novel Drug Delivery System for Herbal Formulations." *Fitoterapia* 81(7):680–89.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2010.05.001>.
- Bangham, Alec D. 1994. "Review of Lasic, Liposomes." *Biophysical Journal* 67(3): 1358– 59.
- Berry, A., Thomas C. Guest, and Tanveer N. 2016. "Phytosomes: From Herbal Drug Delivery To Targeted Clinical Therapy." *Naved et al. World Journal of Pharmaceutical Research* 5(11): 582. www.wjpr.net.
- Bijak, Michał. 2017. "Flavonolignans-Compounds Not Only for Liver Treatment." *Polski Merkuriusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego* 42(247): 34–37.
- Bisht, Deepak et al. 2017. "Development of Ethosomal Gel of Ranolazine for Improved Topical Delivery: In Vitro and Ex Vivo Evaluation." *Journal of Molecular Liquids* 225: 475–81.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2016.11.114>.
- Bombardelli et Al. 1992. "United States Patent (19)." (19): 5–7.
- El-Menshaweh, Shahira F., Adel A. Ali, Mohamed A. Rabeh, and Nermeen M. Khalil. 2018. "Nanosized Soy Phytosome-Based Thermogel as Topical Anti-Obesity Formulation: An Approach for Acceptable Level of Evidence of an Effective Novel Herbal Weight Loss Product." *International Journal of Nanomedicine* 13: 307–18.
- Federico, A., Marcello D., and Carmelina L. 2017. "Silymarin/Silybin and Chronic Liver Disease: A Marriage of Many Years." *Molecules* 22(2): 191.
- Freag, May S., Wedad M. Saleh, and Ossama Y. Abdallah. 2018. "Self-Assembled Phospholipid-Based Phytosomal Nanocarriers as Promising Platforms for Improving Oral Bioavailability of the Anticancer Celastrol." *International Journal of Pharmaceutics* 535(1–2): 18–26.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.10.053>.
- Freag, May S, Yosra SR Elnaggar, and Ossama Y Abdallah. 2013. "Lyophilized Phytosomal Nanocarriers as Platforms for Enhanced Diosmin Delivery : Optimization and Ex Vivo Permeation." : 2385–97.

- Giriraj, K.T. 2014. "Herbal Drug Delivery Systems : An Emerging Area in Herbal Drug Research Herbal Drug Delivery Systems : An Emerging Area in Herbal Drug Research." *Journal of Chronotherapy and Drug Delivery* 2(September 2011): 113–19.
- Hou, Zhenqing et al. 2012. "Phytosomes Loaded with Mitomycin C–Soybean Phosphatidylcholine Complex Developed for Drug Delivery." *Molecular Pharmaceutics* 10(1): 90–101.
- Jain, Pooja et al. 2021. "Quality by Design (Qbd) Assisted Development of Phytosomal Gel of Aloe Vera Extract for Topical Delivery." *Journal of Liposome Research* 31(4): 381– 88. <http://dx.doi.org/10.1080/08982104.2020.1849279>.
- Jain S., Champalal Dhanotiya and Neelesh Malviya. 2012. "Physicochemical Characterization And Determination Of Free Radical Scavenging Activity Of Rutin-Phospholipid Complex." *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research* 3(03): 909–13.
- Khan, Junaid, Amit Alexander, Swarnlata Saraf, and Shailendra Saraf. 2013. "Recent Advances and Future Prospects of Phyto-Phospholipid Complexation Technique for Improving Pharmacokinetic Profile of Plant Actives." *Journal of controlled release* 168(1): 50–60.
- Maenthaisong, R., Nathorn C., Surachet N., and Chuenjid. Kongkaew. 2007. "The Efficacy of Aloe Vera Used for Burn Wound Healing: A Systematic Review." *Burns* 33(6): 713–18.
- Maiti, Kuntal et al. 2010. "Enhancing Bioavailability and Hepatoprotective Activity of Andrographolide from *Andrographis Paniculata*, a Well-known Medicinal Food, through Its Herosome." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(1): 43–51.
- Maryana, Wina, Heni Rachmawati, and Dicky Mudhakhir. 2016. "Formation of Phytosome Containing Silymarin Using Thin Layer-Hydration Technique Aimed for Oral Delivery." *Materials Today: Proceedings* 3(3): 855–66.
- Molaveisi, M., Mostafa S., Karim Parastouei, and Ramezan Ali. 2021. "Fate of Nano-Phytosomes Containing Bioactive Compounds of Echinacea Extract in an Acidic Food Beverage." *Food Structure* 27(July 2020): 100177. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100177>.
- Murdock, Richard C. et al. 2008. "Characterization of Nanomaterial Dispersion in Solution Prior to in Vitro Exposure Using Dynamic Light Scattering Technique." *Toxicological Sciences* 101(2): 239–53.
- Rahaiee, Somayeh et al. 2015. "Improvement of Crocin Stability by Biodegradable Nanoparticles of Chitosan-Alginate." *International Journal of Biological Macromolecules* 79: 423–32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.041>.
- Rathee, Permender, Anjoo Kamboj, and Shabir Sidhu. 2016. "Optimization And Development Of Nisoldipine Nano-Bioenhancers By Novel Orthogonal Array (L27 Array)." *International Journal of Biological Macromolecules*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.097>.
- Rathee, Sushila, and Anjoo Kamboj. 2018. "Optimization and Development of Antidiabetic Phytosomes by the Box–Behnken Design." *Journal of Liposome Research* 28(2): 161– 72. <http://dx.doi.org/10.1080/08982104.2017.1311913>.
- Semalty, Ajay, Mona Semalty, and M S M Rawat. 2007. "The Phyto-Phospholipid Complexes-Phytosomes: A Potential Therapeutic Approach for Herbal Hepatoprotective Drug Delivery." *Pharmacognosy Reviews* 1(2): 369–74. <http://www.phcogrev.com>.
- Semalty, Ajay, Mona Semalty, Mohan Singh Maniyari Rawat, and Federico Franceschi. 2010. "Supramolecular Phospholipids-Polyphenolics Interactions: The PHYTOSOME® Strategy to Improve the Bioavailability of Phytochemicals." *Fitoterapia* 81(5): 306– 14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2009.11.001>.
- Shukla, Sanjeev, and Sanjay Gupta. 2010. "Apigenin: A Promising Molecule for Cancer Prevention." *Pharmaceutical Research* 27(6): 962–78.
- Tung, Bui Thanh, Nguyen Thanh Hai, and Phan Ke Son. 2017. "Hepatoprotective Effect of Phytosome Curcumin against Paracetamol-Induced Liver Toxicity in Mice." *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 53(1): 1–13.