

Pengaruh Perbandingan Konsentrasi *Tween 80* dan Fosfatidilkolin terhadap Karakteristik Transferosom Asam Askorbat

Effect of Tween 80 and Phosphatidylcholine Concentration Ratio on Ascorbic Acid Transferosomes Characteristics

Isriany Ismail¹, Dwi Wahyuni Leboe¹, Nurwinda Eka Syaputri²

¹Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Jl H.M. Yasin Limpo No.36 Kecamatan Sombaopu Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan

¹Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Jl H.M. Yasin Limpo No.36 Kecamatan Sombaopu Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan

Kontak sur-el: isriany.ismail@uin-alauddin.ac.id

ABSTRAK

Transferosom adalah sistem pengantaran obat yang dapat membawa secara transdermal obat hidrofilik, lipofilik, dan amfifilik dengan molekul berat rendah atau tinggi. Transferosom adalah sistem ultra-fleksibel yang dapat merusak dan melewati konstiksi sempit (dari 5 hingga 10 kali lebih kecil dari diameternya sendiri) tanpa kehilangan yang signifikan. Transferosom dapat melintasi barrier stratum korneum. Tujuan dari penelitian ini adalah penentuan perbandingan konsentrasi yang dibutuhkan untuk membuat asam askorbat transferosom. Transferosom disiapkan dengan metode hidrasi lapis tipis. Transferosom mengandung *Tween 80* sebagai pelarut surfaktan, fosfatidilkolin-soya, kloroform : metanol (1 : 1), dan dihidrasi dengan PBS pH 7,4. Berdasarkan penelitian, desain formula yang membandingkan konsentrasi antara fosfatidilkolin: *Tween 80* adalah 95: 5,85: 15, dan 75:25 menunjukkan karakteristik Transferosome. Hasil efisiensi penjeratan adalah sekitar 99,75% -99,95%, ukuran partikel sekitar 151,4-456,1nm, dan morfologi partikel dengan memindai mikroskop elektron dan mikroskop trinocular. Formula terbaik adalah formula III dengan efisiensi penjeratan 99,95%, ukuran partikel 151,4nm dan morfologi menunjukkan mereka memiliki vesikel unilamellar besar (LUV).

Kata Kunci : Transferosom, Asam Askorbat, Liposom *ultra-flexible*, Vesikel, Fosfatidilkolin

ABSTRACT

Transferosome are drug delivery system which are capable to delivery of hydrophilic, lipophilic, and amphiphilic drug with low or high weight molecular. Transferosome are ultra-flexible system which can deform and pass through narrow constriction (from 5 to 10 times less than their own diameter) without significant loss. They can across the barrier of stratum corneum. The aim of this study is determination of ratio concentration that need to make the transferosome ascorbic acid. Transferosome were prepared by thin-layer hydration method. Transferosome are contains Tween 80 as a surfactant, soya-phosphatidylcholine, chloroform methanol (1:1) as a solvent, and they are hydrated by PBS pH 7.4. Based on the investigate, design of the formula who compare concentration between phosphatidylcholine: Tween 80 are 95:5.85:15, and 75:25 showed well characteristics of Transferosome. Result of entrapment efficiency are about 99.75%-99.95%, particles size are about 151.4-456.1nm, and particle morphology by scanning electron microscope and trinocular microscope. The best formula is formula III with entrapment efficiency 99.95%, particle size 151.4nm and the morphology showed they has large unilamellar vesicles (LUV).

Keywords : Transferosome, Ascorbic Acid, Ultra-flexible Liposome, Vesicles, Phospatydilcholine

PENDAHULUAN

Telah dilaporkan sebelumnya bahwa ketika obat diberikan melalui jalur oral,

sekitar 74% zat aktif oral tidak ditemukan seefektif yang diinginkan (Marwah, Garg, Goyal, & Rath, 2016, hal. 564). Efikasi obat

yang diberikan secara oral dapat ditingkatkan dengan memanfaatkan rute pengantaran obat lain. Pengantaran obat melalui jalur transdermal bisa menjadi jawaban atas masalah ini. Rute transdermal juga bisa meningkatkan kualitas hidup pasien. Rute transdermal lebih baik daripada bentuk sediaan oral (Ahad, et al., 2012).

Penggunaan asam askorbat topikal disukai dalam praktik dermatologi. Berbagai krim dengan derivatif Asam Askorbat yang tersedia di pasar. Tidak semua jenis sediaan secara fisiologis efektif. Beberapa bisa membawa Vitamin C ke dermis dalam jumlah yang cukup, sementara bentuk kimia yang lain tidak bisa terkonversi ke bentuk aktif biologis dari Asam Askorbat di kulit (Telang, 2013).

Transferosom adalah agregat supramolekul lipid superformal sempurna yang terdiri dari sekurang-kurangnya satu kompartemen bagian dalam berair yang dikelilingi oleh lapisan lipid ganda yang memiliki sifat khusus yang disesuaikan, karena adanya "aktivator permukaan" pada membran vesikular (Zheng, Fang Xia Wang, & Zhang, 2012).

Tween 80 dan fosfatidilkolin menjadi bahan yang umum dalam pembuatan transferosom. Seperti misalnya penggunaan

tween 80, span 80 dan fosfatidilkolin sebagai bahan pembawa ibuprofen dengan proses pembuatan metode hidrasi film lipid dengan *rotary evaporator* (Jain, Jain, & Mahajan, 2014). Penggunaan tween 80 dan fosfatidilkolin dengan pelarut etanol juga diterapkan dalam pembuatan gel Voltaren sehingga senyawa aktif, natrium diklofenik, dapat lepas terkendali setelah pemberian gel secara subkutan (Rai, Pandey, & Rai, 2017).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan bahan yang digunakan

Alat yang digunakan yaitu *bath* sonikator (*Elmasonic S 40 H*), labu alas bulat (*Schoot Duran*[®]), mikroskop triokuler, neraca analitik (*Kern*), *Particle Size Analyzer* (*Beckman Coulter*), penangas (*Memmert*), *rotary evaporator* (*Heidolph Vavor*), *Scanning Electron Microscope* (*HITACHI SU3500*), *sentrifugator* (*EBA 21*), *shaker* (*Heidolph Unimax*), dan spektrofotometer UV-VIS (*Genesys*).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu asam askorbat (*Merck*[®]), Air suling, Kloroform (*Bratachem*[®]), KH_2PO_4 (*Asian Pharmacy*[®]), metanol (*Bratachem*[®]), *soya phosphatidylcoline* (*Sigma Aldrich*[®] Singapura), *tween 80* (*Bratachem*[®]), sodium hidroksida dan *whatman filter* No. 1 dan 43.

Tabel 1. Formula Transferosom Vitamin C

Kode Formula	Fosfatidilkolin (%)	Tween 80 (%)	Kloroform:Metanol (1:1)(mL)	Asam Askorbat (mg)
F I	95	5	10	100
F2	85	15	10	100
F3	75	25	10	100

Pembuatan Transferosom

Prosedur pembuatan transferosom menggunakan metode yang digunakan oleh Eldhose, Mathew, & J (2016). Metode pembuatan transferosom menggunakan teknik hidrasi film tipis. Proses pembuatannya meliputi 3 langkah. Pertama, ditimbang masing – masing bahan. Kemudian dicampurkan bahan vesikel dengan sampel terbentuk, yakni *tween* 80, asam askorbat, dan fosfatidilkolin-soya di dalam labu alas bulat dan dimasukkan kloroform methanol (1:1) sebanyak 10 mL. Setelah itu, diuapkan pelarut organik di atas suhu transisi lipid 40°C menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Hingga terbentuk lapis tipis di dinding labu alas bulat dan ditandai dengan tidak adanya aliran dalam labu. Campuran disimpan dalam deksikator 1 x 24 jam. Lapisan film yang tertinggal dihidrasi dengan campuran dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 10 mL dan di-*shaker* 60 rpm dalam suhu ruang selama 1 x 60 menit. Kemudian, lapisan film dидiamkan selama 1 x 60 menit hingga vesikel mengembang. Setelah itu, vesikel disonikasi dengan *bath* sonikator pada suhu ruang selama 30 menit.

Pengujian efisiensi penjerapan obat dalam Transferosom Asam Askorbat

Jumlah obat terjerap dalam Transferosom Asam Askorbat dari formulasi berbeda ditentukan dengan cara sentrifugasi 10 mL dispersi transferosom asam askorbat pada kecepatan 5000 rpm selama 90 menit. Cairan

supernatan diukur pada panjang gelombang maksimum asam askorbat dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Andang, Kumi, Yoshiyuki, Yoshie, & Etsuo, 2015).

Efisiensi penjerapan dihitung dengan rumus (Venkatesh, et al., 2014)

$$ET = \frac{TC - TTC}{TC} \times 100\%$$

dimana ET adalah efisiensi penjerapan, TC adalah konsentrasi total vitamin C awal, TTC adalah konsentrasi vitamin C yang tidak terjerap.

Pengujian Ukuran Partikel

Ukuran partikel pada Transferosom Asam Askorbat dapat diukur dengan *Particle Size Analyzer* dengan sistem *Dynamic Light Scattering* (Lei, Yu, Lin, & Zhou, 2013).

Pengujian Morfologi Permukaan

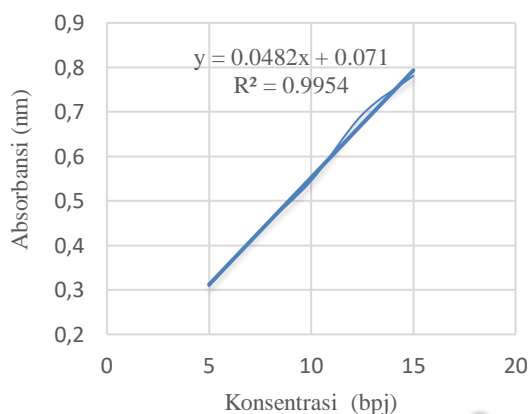
Bentuk sediaan sediaan dilihat menggunakan SEM dan mikroskop optik (Irfan, Verma, & Ram, 2012; Andang, Kumi, Yoshiyuki, Yoshie, & Etsuo, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Transferosom adalah kandidat yang baik untuk pengantaran non-invasif untuk obat-obatan berukuran kecil, menengah, dan besar. Formula yang dibuat terdiri dari bahan aktif asam askorbat, *tween* 80 sebagai surfaktan, fosfatidilkolin-soya sebagai pembentuk vesikel, metanol dan kloroform sebagai pelarut organik, serta PBS (*Phosphate Buffer Sulfat*) pH 7,4 sebagai cairan penghidrasi. Yang membedakan ketiga formula adalah

Tabel 2. Absorbansi Asam Askorbat secara Spektrofotometri UV-Vis (258,00 nm)

Konsentrasi (X)	Absorbansi (Y)
5 bpj	0,309 nm
7,5 bpj	0,434 nm
10 bpj	0,545 nm
12,5 bpj	0,694 nm
15 bpj	0,781 nm



Gambar 1. Kurva Baku Asam Askorbat.

kombinasi *Tween* 80 dan soya fosfatidilkolin. Formula I perbandingannya 5:95, Formula II 15:85 dan Formula III 25:75. Tujuan variasi konsentrasi adalah untuk mengetahui pengaruh perbandingan konsentrasi dari ketiga formula.

Metode yang digunakan dalam pembuatan transferosom adalah metode hidrasi lapis tipis. Kecepatan *rotary evaporator* yang tinggi bisa menyebabkan tidak meratanya penyebaran panas yang menyebabkan lapis tipis yang terbentuk akan berbeda ketebalannya, sehingga menggunakan kecepatan 60 rpm dalam kondisi vakum diharapkan cukup untuk membentuk transferosom. Vakum sendiri berfungsi untuk menguapkan pelarut organik yakni kloroform : metanol (1:1). Suhu yang digunakan adalah

40°C, tidak terlalu tinggi dikarenakan menjaga kestabilan zat aktif serta fosfolipid. Sediaan dihidrasi dengan dapar fosfat pH 7,4. Dapar fosfat akan melingkupi keseluruhan lapisan lipid film tipis yang terbentuk agar transferosom terbentuk secara merata dan dihidrasi dengan menggunakan *shaker* 60 rpm agar proses hidrasinya merata ke seluruh permukaan labu alas bulat yang mengandung lapis tipis. Hidrasi dilakukan dengan shaker tertutup untuk melindungi sampel karena sensitivitasnya terhadap cahaya. Proses sonikasi, sonikator yang digunakan adalah *bath* sonikator yang merupakan tipe sonikator tidak langsung yang memanfaatkan gelombang ultrasonik yang melewati cairan untuk sampai ke sampel

Untuk penentuan persen efisiensi penyerapan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis, dilakukan terlebih dahulu pengukuran baku sampel yakni asam askorbat (dengan panjang gelombang 258 nm) yakni 5 bpj; 7,5 bpj; 10 bpj; 12,5 bpj; 15 bpj dengan blanko dapar fosfat pH 7,4 sesuai dengan cairan penghidrasi (lihat tabel 2). Kurva yang terbentuk memiliki hubungan yang baik antara konsentrasi dan absorbansi, dengan $R^2 = 0,9954$ (lihat gambar 1). Kurva baku digunakan untuk menentukan konsentrasi asam askorbat tidak terjerap dari sampel. Sampel sebelum diukur, disentrifugasi terlebih dahulu 5000 rpm selama 90 menit. Hasilnya, obat terjerap dengan baik pada sediaan dengan jumlah penyerapan lebih dari 99% (lihat tabel 3). Hasil yang paling baik

Tabel 3. Absorbansi dan % Obat Terjerap.

Sampel	Absorbansi (nm)	Obat Terjerap %
Formula I	1,128 nm	99,78 %
Formula II	0,523 nm	99,90 %
Formula III	0,305 nm	99,95 %

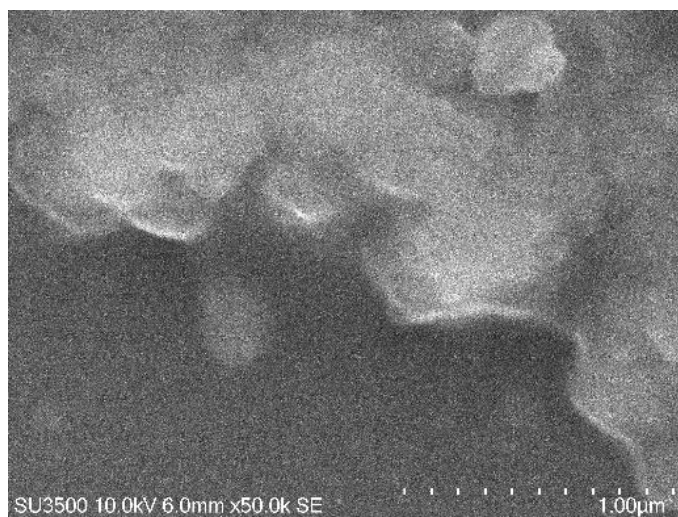
Tabel 4. Data Ukuran Partikel Transferosom Asam Askorbat

Parameter	F I (nm)	F II (nm)	F III (nm)
Range ukuran partikel	456,1	176,2	151,4
Indeks Polidispersitas	0,363	0,248	0,381

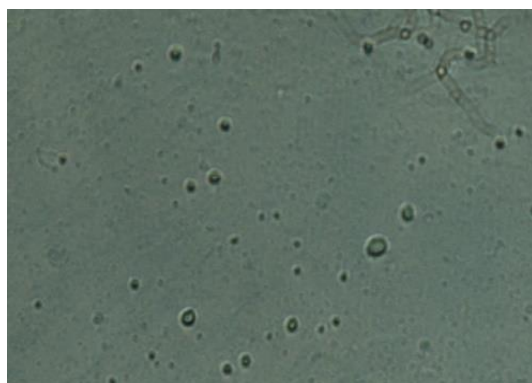
untuk persen obat terjerap adalah Formula III dengan 99,95%.

Penentuan ukuran partikel suspensi

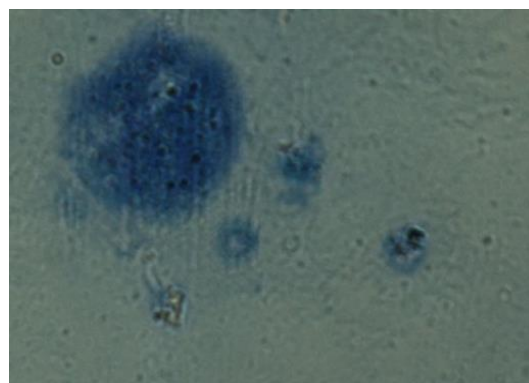
Transferosom diukur dengan alat *dynamic light scattering (Beckman Coulter)* dilihat pada tabel 2. Ukuran partikel dari sediaan adalah Formula I dengan 456,1 nm, Formula II dengan 176,2 dan Formula III 151,4 nm. Sedangkan indeks polidispersitas Formula I dengan 0,363, Formula II 0,248 dan Formula III 0,381. Ukuran liposom adalah 50nm - 100µm. Ukuran partikel untuk liposom adalah 20 nm – 10 µm. Karena liposom konvensional dengan ukuran 200 – 800 nm memiliki keterbatasan, Cevc dan Blume memperkenalkan liposom generasi kedua bernama liposom *ultradeformable* dengan elastisitas tinggi (10-30 lebih fleksibel



Morfologi yang diamati dengan SEM 50,0kV
Gambar 2. Morfologi Partikel dengan SEM



Morfologi perbesaran 40x



Morfologi dalam metilen blue

Gambar 3. Morfologi Partikel dengan Mikroskop trinokuler

dibandingkan liposom) yang secara umum ukurannya <300nm. Pada ketiga formula berdasarkan literatur ketiganya masuk dalam range ukuran partikel yang sesuai untuk transferosom. Dipilih formula III untuk diamati secara morfologi.

Morfologi diamati pada sampel transferosom asam askorbat yang diberi perlakuan preparasi disalut emas dan diamati pada kecepatan voltase 10,0 kV. Morfologi tidak sferis dan tidak beraturan dikarenakan komponen dari transferosom yang terdiri kebanyakan lemak sehingga memungkinkan untuk tidak membentuk sferis pada *deck glass* jika dibandingkan dengan salah satu penelitian dengan sampel yang telat disalut dengan emas dan diamati pada kecepatan voltase 20 kV. Morfologi yang dilihat menggunakan mikroskop triokuler dilakukan dua pengamatan yakni tanpa metilen blue dan dengan metilen blue yang perbesarannya konstan 40x. Transferosom asam askorbat memperlihatkan struktur *large unilamellar vesicle* (LUV) dimana diperlihatkan dengan saat ditetesi metilen blue *core* berubah bagian hidrofiliknya menjadi biru. Formula III digolongkan dalam LUV karena ukuran partikelnya masuk dalam range LUV 100 nm-10 μ m.

KESIMPULAN

Formula I, II, dan III mampu membentuk Transferosom Asam Askorbat. Perbandingan konsentrasi antara fosfatidilkolin dan tween 80 memberikan pengaruh terhadap

karakteristik transferosom asam askorbat yang baik adalah pada formula III, dengan karakteristik yakni efisiensi penyerapan 99,95 %, ukuran partikel 151,4nm, dan indeks polidispersitas 0,381 dengan pengamatan morfologi bentuk partikel *large unilamellar vesicle*.

REFERENSI

- Ahad, A., Aqil, M., Kohli, K., Sultana, Y., Mujeeb, M., & Ali, A. (2012). Formulation and Optimzation Nanotransferosomes using Experimental Design Technique for Accentuated Transdermal Delivery of Valsartan. *Nanomedicine*.
- Andang, M., Kumi, K., Yoshiyuki, H., Yoshie, M., & Etsuo, Y. (2015). Evaluation of Transfersome and Protransfersome for Percutaneous Delivery of Cisplatin in Hairless Mice. *Pharmaceutics & Pharmacology*.
- Eldhose, M., Mathew, F., & J, N. (2016). Transfersomes. *International Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Research*.
- Irfan, M., Verma, S., & Ram, A. (2012). Preparation and Characterization of Ibuprofen Loaded Transfersome As A Novel Carrier for Transdermal Drug Delivery System. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 1.
- Jain, S., Jain, V., & Mahajan, S. C. (2014). Lipid Based Vesicular Drug Delivery Systems. *Advances in Pharmaceutics*.
- Lei, W., Yu, C., Lin, H., & Zhou, X. (2013). Development of tacrolimus-loaded transfersomes for deeper skin penetration enhancement and therapeutic effect improvement in vivo. *asian journal of pharmaceutical sciences*.
- Marwah, H., Garg, T., Goyal, A., & Rath, G. (2016). Permeation Enhancer Strategies to Transdermal Drug Delivery. *Drug Delivery*, 564.
- Rai, S., Pandey, V., & Rai, G. (2017). Transfersomes as versatile and flexible nano-vesicular carriers in skin cancer therapy: the state of the art. *Nano Reviews and Experiments*, 8(1).

- Telang, P. S. (2013). Vitamin C in dermatology. *Indian Dermatology Online*, 4(2).
- Venkatesh, D. N., Kalyani, K., Tulasi, K., Priyanka, S., Abid Ali, S., & Kiran, H. (2014). Transfersomes: A Novel Technique for Transdermal Drug Delivery. *International Journal of Research in Pharmaceuticals and Nano Science*.
- Zheng, W., Fang Xia Wang, L., & Zhang, Y. (2012). Preparation and quality assessment of itraconazole transfersome. *Journal of Pharmaceutics*.