

FORMULASI LIPOSOM

EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)

Ungsari Rizki Eka Purwanto¹, Lilies Wahyu Ariani², Anastasia Setyopuspito Pramitaningastuti³
¹⁻³Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”
Email: ungsari.farmasi@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian optimasi formulasi liposom ekstrak kulit buah naga merah. Optimasi meliputi komponen penyusun liposom yaitu fosfatidilkolin yang berasal dari lesitin soya dan kolesterol. Metoda liposom yang digunakan pada penelitian ini adalah metoda hidrasi lapis tipis menggunakan *rotary evaporator*. Optimasi liposom dilakukan dua kali dengan perbedaan penggunaan fase air yaitu dapar fosfat pH 7,4 dan dapar sitrat pH 5. Hasil optimasi menunjukkan, untuk fase air dapar fosfat pH 7,4, formula optimum liposom adalah dengan komponen kolesterol dibanding lesitin = 0,647 : 0,353. Sedangkan untuk fase dapar sitrat pH 5, formula optimum liposom adalah dengan komponen kolesterol dibanding lesitin = 0,889 : 0,111. Efisiensi penyerapan total antosianin yang paling besar terdapat pada formulasi optimum liposom dengan fase air dapar fosfat, yaitu 82,48% ± 0,004.

LATAR BELAKANG

Liposom adalah vesikel yang tersusun dari satu atau lebih cangkang enkapsulasi lipid sferis fase ganda. Lapisan ganda dapat terbentuk dari kolesterol dan fosfolipid alami seperti lesitin. Lesitin memiliki bagian molekul hidrofilik dan hidrofobik yang memiliki kelarutan berbeda dan secara spontan membentuk lapisan tunggal atau ganda, yang kemudian membentuk vesikel tertutup dengan adanya larutan air¹. Ukuran liposom berkisar 0,025 µm hingga lebih dari 5 µm.

Liposom memiliki beberapa keunggulan seperti dapat mengarahkan obat pada target tertentu, biokompatibel dan dapat melindungi obat dari degradasi. Formulasi bentuk liposom merupakan salah satu cara yang dapat diaplikasikan untuk mengatasi keterbatasan stabilitas zat aktif. Zat aktif yang mudah terdegradasi adalah antosianin, padahal penggunaannya sangat luas sebagai antioksidan. Salah satu buah yang mengandung antosianin adalah buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Antosianin kulit buah naga merah yang mudah rusak oleh faktor lingkungan. Selain

itu, penerapan teknologi liposom untuk sediaan topikal telah terbukti efektif dalam penghantaran obat dalam kulit², sehingga diharapkan efek antioksidan dari antosianin kulit buah naga merah dapat tercapai.

METODE PENELITIAN

3.3.1 Ekstraksi Kulit Buah Naga Merah

Kulit buah naga segar yang sebelumnya sudah disortasi basah, diiris tipis kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan kombinasi pelarut etanol 96% : asam sitrat 5% (1:9), dan ditambah dengan vitamin E 100IU. Maserasi dilakukan dengan perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1:3. Maserat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga diperoleh ekstrak kental dengan kadar air kurang dari 10% kemudian dihitung rendemen ekstrak.

3.3.2 Karakterisasi Ekstrak Kental Kulit Buah Naga Merah

Pemeriksaan karakterisasi ekstrak kental bunga Rosela, meliputi: organoleptis, uji kualitatif kandungan kimia ekstrak, uji

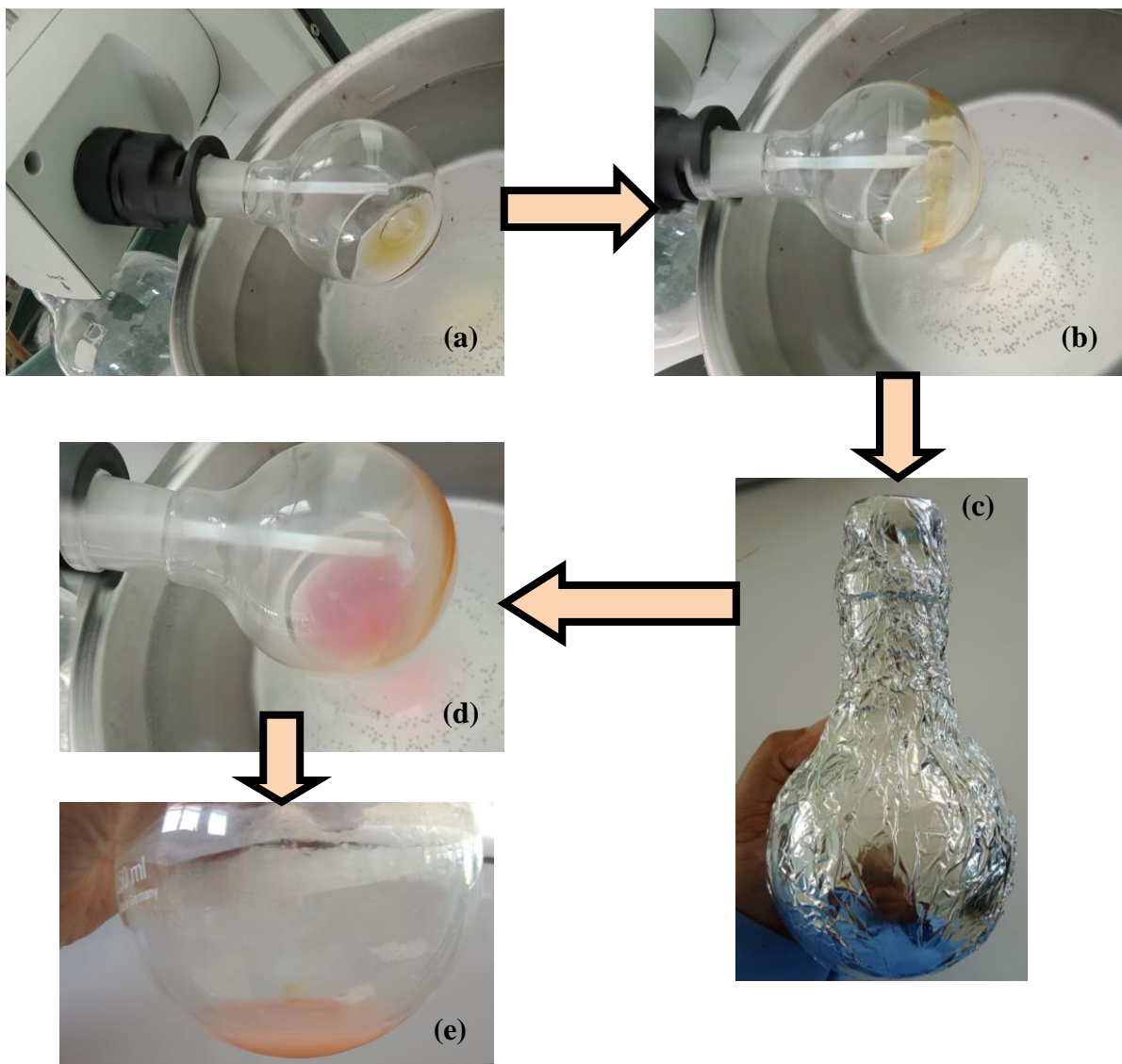
kandungan total antosianin, dengan metode pH differensial³ dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

3.3.3 Optimasi Liposom Antosianin Kulit Buah Naga Merah

Optimasi komponen penyusun liposom antosianin kulit buah naga merah yaitu lesitin soya (Indoplant) dan kolesterol (Merck) , dengan metode *Simplex Lattice Design* dan dengan bantuan *software Design Expert 10.0* (Tabel 2). Pembuatan liposom dilakukan dengan metode hidrasi lapis tipis. menghidrasi seluruh lapisan liposom menjadi suspensi, selanjutnya dilakukan sonikasi terhadap suspensi liposom hingga

Range pemakaian baik untuk kolesterol maupun lesitin soya yang dioptimasi adalah 30 – 800 mg.

Pelarut organik (kloroform 9 mL) pada fase lipid (lesitin soya dan kolesterol) diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Kemudian ditambahkan fase air (ekstrak kulit buah naga merah dalam medium dapar). Pada penelitian ini dibuat 2 tipe sediaan liposom dengan medium dapar yang berbeda, yaitu dapar sitrat pH 5 dan dapar fosfat pH 7,4. Setelah, fase air dapat menghasilkan satu fase (Gambar 1). Respon yang dinilai dari suspensi liposom adalah efisiensi penyerapan dan pH.



Gambar 1. Tahap Pembuatan Suspensi Liposom Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (a) Penguapan Pelarut Organik (b) Pembentukan Lapisan Liposom (c) Lapisan Liposom setelah Dialiri Gas N₂ (d) Proses Hidrasi dengan Fase Air (e) Suspensi Liposom

Gambaran morfologi vesikel liposom yang optimum diamati dengan menggunakan

OptiLab Advance V2. Respon yang dinilai adalah besar efisiensi penyerapan dan pH

sediaan. **Efisiensi penyerapan (%EP)** dihitung dari persamaan berikut :

$$\frac{\text{Total antosianin dari ekstrak yang terjerap} \times 100\%}{\text{Total antosianin dari ekstrak pada liposom}}$$

Total antosianin dihitung dari :

$$\Delta \text{ Absorbansi} = [A_{535,5} - A_{700}] \text{ pH } 4,5 - [A_{535,5} - A_{700}] \text{ pH } 1$$

$$\text{Total antosianin (jenis betasianin) mg/L} = \frac{(\Delta \text{ Absorbansi} \times \text{DF} \times \text{MW} \times 1000)}{(\Sigma \times L)}$$

Keterangan :

- Δ Absorbansi : Selisih absorbansi pada pH 1 dan pada pH 4.5
MW : Molecular weight (berat molekul) 550g/mol
DF : Dilution factor (faktor pengenceran)
 Σ : Koefisien absorbansi (60.000 1/mol)
L : tebal kuvet = 1 cm
1000 : pengubah g menjadi mg

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit buah yang digunakan untuk maserasi (setelah sortasi basah) adalah 216,5 g; sehingga total kombinasi pelarut yang digunakan untuk perendaman adalah 649,5 mL. Ekstrak kulit buah naga merah berhasil diperoleh dengan bobot ekstrak sebesar 10,1972 g (persentase rendemen sebesar 4,71%). Hasil skrining fitokimia ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung senyawa fenolik/polifenol, flavonoid, serta positif mengandung antosianin jenis betasianin. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak negatif mengandung tanin.

Liposom merupakan salah satu sistem penghantaran obat, dimana karakter amfiliknya memungkinkan solubilisasi atau enkapsulasi obat, baik yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik. Liposom merupakan salah satu sistem penghantaran obat yang baik dan dapat digunakan secara

topikal. Beberapa penelitian menganggap bahwa liposom merupakan sistem penghantaran obat yang baik digunakan dalam sediaan topikal.

Metode hidrasi lapis tipis dipilih pada pembuatan liposom. Hal ini dikarenakan zat aktif yang digunakan bersifat polar sehingga ekstrak yang mengandung antosianin (golongan betasianin) yang bersifat polar dapat dilarutkan dalam fase air terpisah dari lapisan liposom yang bersifat non polar, baru kemudian dilakukan hidrasi pada lapisan liposom yang telah terbentuk. Bahan yang digunakan adalah lesitin soya, kolesterol, kloroform dan dapar fosfat pH 7,4 dan ekstrak kulit buah naga merah. Lesitin soya dan kolesterol dalam kloroform (fase lipid) digunakan sebagai bahan dasar pembentuk lipid bilayer pada liposom, sedangkan ekstrak kulit buah naga merah dalam larutan dapat digunakan sebagai zat aktif (fase air).

Kolesterol menyusun liposom melalui interaksi dengan fosfolipid. Inkorporasi kolesterol dalam liposom dapat merubah sifat liposom yang akan meningkatkan stabilitas terutama stabilitas mekanis, menurunkan porositas atau kebocoran melalui membran, dan mencegah agregasi dan fusi liposom^{4,5}

Peneliti membuat 3 sediaan liposom pada uji pendahuluan, yaitu liposom dengan fase air dapar sitrat pH 5, liposom dengan fase air kombinasi dapar sitrat pH 5 dan tween 80, liposom dengan fase air kombinasi dapar fosfat pH 7,4 dan tween 80. Lapisan liposom dibuat sama pada ketiga formula uji pendahuluan dengan mencampurkan 50 mg kolesterol dan 500 mg lesitin ke dalam 10 mL, dimasukkan ke dalam labu alas bulat, kemudian diuapkan dengan rotary evaporator (gambar 1). Lapisan tersebut kemudian dialiri dengan gas N₂ selama 15

menit atau sampai beku, kemudian dimasukkan ke dalam freezer selama 1 malam (12 jam). Lapisan liposom yang telah terbentuk, kemudian ditambahkan dengan fase air. Fase air di sini adalah ekstrak 50 mg yang dilarutkan dengan pelarut. Suspensi liposom yang telah terbentuk kemudian dilihat gambaran liposom yang terbentuk di bawah mikroskop. Hasilnya lapisan liposom yang ditambahkan Tween 80 lebih terhidrasi sempurna.

Langkah selanjutnya adalah mengoptimasi komponen penyusun liposom ekstrak kulit buah naga merah. Optimasi ini menggunakan bantuan *software* Design Expert 10.0 (Tabel 1 dan Tabel 2).

Tabel 1. Optimasi Komponen Liposom Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dengan Fase Air Dapar Fosfat pH 7,4

		Compon ent 1	Compo nent 2	Respons e 1	Respo nse 2
St d	Ru n	A:Kolest erol (mg)	B:Lesiti n (mg)	%Efisie nsi Penyera pan	pH
2	1	30	800	61,4	7,32
3	2	80	300	85,97	6,98
1	3	55	550	70,18	7,38
4	4	67,5	42,5	70,19	6,87
7	5	55	550	93,86	7,39
8	6	425	675	83,33	7,33
5	7	30	800	66,67	7,32
6	8	80	300	88,6	6,99

Range pemakaian kolesterol dan lesitin pada proses optimasi mengacu pada uji pendahuluan. Pada uji pendahuluan dipakai 50 mg kolesterol dan 500 mg lesitin, sehingga pada optimasi dipakai jumlah di bawah dan di atas penggunaan pada uji pendahuluan tersebut, yaitu 30-80 mg untuk kolesterol dan 300-800 mg untuk lesitin. Efisiensi penyerapan dihitung dengan membandingkan total antosianin ekstrak yang dapat dienkapsulasi dengan liposom

dengan total antosianin dari konsentrasi total suspensi liposom yang telah ditetapkan kadarnya terlebih dahulu. Optimasi dilakukan dua kali, optimasi yang pertama menggunakan fase air dapar sitrat pH 5 dan optimasi yang kedua menggunakan dapar fosfat pH 7,4.

Tabel 2. Optimasi Komponen Liposom Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dengan Fase Air Dapar Sitrat pH 5

		Compon ent 1	Compo nent 2	Respons e 1	Respo nse 2
St d	Ru n	A:Kolest erol (mg)	B:Lesiti n (mg)	%Efisie nsi Penyera pan	pH
2	1	30	800	19,3	5,22
3	2	80	300	64,04	5,02
1	3	55	550	43,86	5,02
4	4	67,5	42,5	64,04	5,05
7	5	55	550	29,83	5,02
8	6	425	675	75,44	5,31
5	7	30	800	84,21	5,23
6	8	80	300	72,81	5,02

Semua formula optimasi, secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, dan semua optimasi dapat membentuk vesikel liposom. Hasil optimasi menunjukkan, untuk fase air dapar fosfat pH 7,4, formula optimum liposom adalah dengan komponen kolesterol dibanding lesitin = 0,647 : 0,353. Sedangkan untuk fase dapar sitrat pH 5, formula optimum liposom adalah dengan komponen kolesterol dibanding lesitin = 0,889 : 0,111. Liposom dengan dapar fosfat pH 7,4 memiliki efisiensi penyerapan dari pada dapar sitrat pH 5, yaitu 82,48% ± 0,004.

Liposom yang telah dihasilkan kemudian disonikasi selama 30 menit. selanjutnya dilakukan evaluasi karakteristik fisik. Uji organoleptik menunjukkan bahwa liposom berbentuk cair, berwarna jingga

yang menunjukkan bahwa warna antosianin sudah tersalut oleh lapisan lipid liposom yang berwarna coklat yang berasal dari warna lesitin soya yang digunakan.

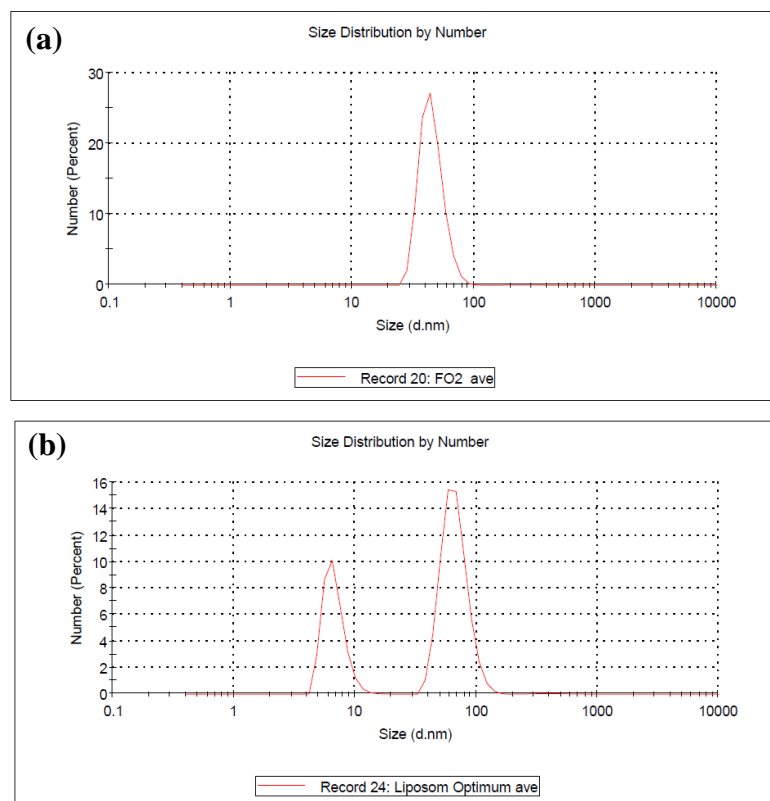
Hasil distribusi ukuran vesikel liposom menunjukkan rata-rata ukuran liposom dengan fase air dapar fosfat pH 7,4 adalah 270,7 nm, sedangkan untuk fase air dapar sitrat pH 5 adalah 347,3 nm (gambar

3), adapun morfologi vesikel liposom dapat dilihat pada gambar 4.

Solutions A						
Number	Kolesterol	Lesitin	%EP	pH	Desirability	
1	0,647	0,353	82,473	7,207	0,462	Selected

Solutions B						
Number	Kolesterol	Lesitin	%EP	pH	Desirability	
1	0,689	0,111	45,448	5,020	0,718	Selected

Gambar 2. Formula Optimum yang Disarankan *Design Expert 10.0*; A. Fase Air Dapar Fosfat pH 7,4; B. Fase Air Dapar Sitrat pH 5



Gambar 3. Distribusi Vesikel Liposom Formula Optimum.

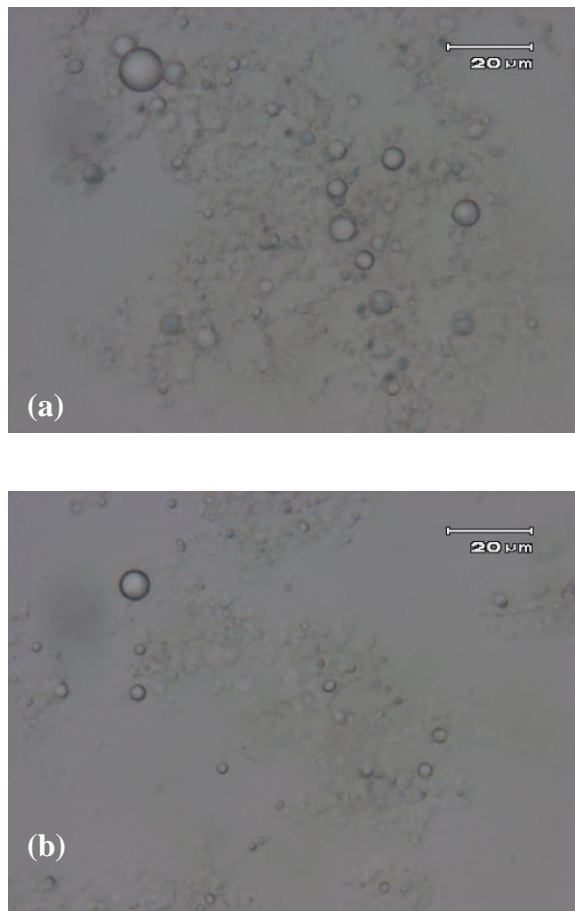
Dari segi ukuran, liposom yang dihasilkan termasuk ke dalam vesikel multilamellar (*multilamellar vesicles/MLV*) biasanya terdiri atas vesikel dengan ukuran 100-1000 nm, setiap vesikel umumnya memiliki lima atau lebih lamela konsentrik⁴. Beberapa literatur menggunakan istilah vesikel multilamellar besar (*large multilamellar vesicles/LMV*) yang maksudnya sama dengan MLV.⁶

Liposom dapat membawa molekul tersebut melalui berbagai cara, yakni terikat pada membran, terinterkalasi di antara dwi lapis lipid, terlarut dalam dwi

lapis lipid, atau terlarut dalam vesikel (volume cairan)⁷; adapun dalam formulasi ini zat aktif masuk ke dalam vesikel liposom.

Stabilitas sediaan suspensi liposom menunjukkan bahwa sediaan liposom dengan dapar fosfat pH 7,4 menghasilkan stabilitas yang paling baik apabila disimpan pada suhu 0°C (freezer). Pada suhu 8°C dan di atasnya stabilitas total antosianin dapat mengalami penurunan. Sedangkan sediaan liposom dengan dapar sitrat pH 5 menghasilkan stabilitas yang paling baik apabila disimpan maksimal pada suhu 8°C,

pada suhu kamar kandungan antosianin yang ada dapat mengalami penurunan.



Gambar 4. Morfologi Vesikel Liposom Formula Optimum di Bawah Mikroskop dengan Bantuan Kamera Digital OLYMPUS DP12 dengan perbesaran 1000x (a) Fase Air Dapar Fosfat pH 7,4; (b) Fase Air Dapar Sitrat pH 5

SIMPULAN

Esktrak kulit buah naga merah dapat diformulasi menjadi sediaan liposom dengan perbandingan komposisi kolesterol : lesitin = 0.647: 0.353 untuk fase air dapar fosfat pH 7,4, dan dengan komponen kolesterol dibanding lesitin = 0,889 : 0,111 untuk fase air dapar sitrat pH 5. Efisiensi penyerapan dengan fase air dapar fosfat pH 7,4 lebih besar daripada dapar sitrat pH 5.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih yang sebesar-besarnya atas pembiayaan penelitian, kepada Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat DIKTI melalui program Penelitian Dosen Pemula adengan SK nomor T/140/E3/RA.00/2019, serta perjanjian kontrak nomor 04/LPPM/PDP/PENELITIAN/ V/2019. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abolfazl Akbarzadeh, Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S.W., Zarghami, S., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi M., Nejati-Koshki, K. 2013. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett.* **8(1)** : 102
2. Reddy, V.I.J., Ramesh V.Reddy, Pravallika dan Suneetha. 2011. A Review on Liposomes. *Journal of Pharmaceut. And Bio.Chem.Sci.* **2** : 739-751.
3. Paranoan, C.A.C., Lahming, Kardiman. 2017. Analisis Ekstraksi Pigmen Betasianin Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Pewarna Alami. *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Teknik Universitas Negeri Makassar.* 74-80.
4. New RRC. Introduction. 1990. In: New RRC (ed). *Liposomes. A Practical Approach.* IRL Press: 1-31.
5. Lasic DD (ed). 1993. Chemistry of lipids and liposomes. In: *Liposomes from Physics to Application.* Elsevier Science Publisher BV : 1-42.
6. Purwaningsih EH. 2002. Inkorporasi Metilprednisolon Palmitat pada Membran Liposom yang Mengandung Tetraeter Lipid Berasal dari Archaea serta Gambaran Distribusinya di Beberapa Organ Limfoid pada Mencit. *Disertasi Program Studi Ilmu Biomedik FKUI, Program Doktor UI.*
7. Lasic DD (ed). 1993. Liposomes As A Drug Delivery System. In: *Liposomes from Physics to Application.* Elsevier Science Publisher BV : 265-324