



Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Lesitin Kedelai dan Asam Kolat pada Karakteristik Transfersom Pterostilben

Haifa Nurmahliati ^{1*}, Ferri Widodo ², Oktavia Eka Puspita ²

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Kota Malang, Indonesia

²Departemen Farmasetika, Program Studi Sarjana Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Kota Malang, Indonesia

INFO ARTIKEL

A B S T R A K

Sejarah artikel:

Penerimaan
naskah: 7

Desember 2019

Penerimaan
naskah revisi: 17
Mei 2020

Disetujui untuk
dipublikasikan: 20
Mei 2020

Kata kunci :

Fosfatidilkolin,
Surfaktan,
Transfersom

Inflammaging merupakan inflamasi sistemik yang disebabkan oleh proses penuaan tanpa adanya infeksi dari luar, dan merupakan faktor yang sangat tinggi mempengaruhi morbiditas dan mortalitas pada orang tua. Pterostilben yang terkandung dalam blueberries dapat mencegah inflamasi dan oksidasi. Namun pterostilben memiliki kelarutan air dan stabilitas yang rendah, sehingga untuk meningkatkan stabilitas dan akseptabilitas yaitu dengan pembuatan Transfersom Pterostilben. Transfersom terdiri phospholipid berupa fosfatidil choline sebagai komponen pembentuk vesikel, surfaktan sebagai Edge activators yaitu untuk meningkatkan fleksibilitas transfersom. Komposisi dari Lesitin sebagai fosfolipid dan Surfaktan merupakan suatu variabel yang dapat mempengaruhi optimasi formula dari Transfersom. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari perbandingan konsentrasi antara lesitin kedelai sebagai phospholipid dan asam kolat sebagai surfaktan terhadap ukuran partikel. Perbandingan yang digunakan yaitu lesitin kedelai 94%: asam kolat 6%(F1); kedelai 95%: asam kolat 5%(F2); dan kedelai 96%: asam kolat 4%(F3). Transfersom diuji organoleptik, ukuran partikel dan potensial zeta. Hasil uji dianalisa secara statistik dengan SPSS One-way ANOVA dilanjut dengan Post Hoc Turkey, dan uji Paired T-Test. Semua formula berwarna kuning keputihan dengan kejernihan yaitu keruh serta bau khas soya, hasil uji ukuran partikel berukuran <400nm dengan pdi <0,5 serta nilai potensial zeta >-30 mV. Berdasarkan hasil diperoleh formula optimum yaitu dengan perbandingan kedelai 95%: asam kolat 5%(F2).

Effect of Soy Lecithin and Sodium Cholate Concentration on Characterization Pterostilbene Transfersomes

Keywords:

Breast Milk,
Questionnaires,
Medications

A B S T R A C T

Inflammaging is a systemic inflammation caused by the aging process without any infection from the outside and it is a very high factor affecting the morbidity and mortality in the elderly. Pterostilbene contained in blueberries can prevent inflammation and oxidation. However, pterostilben has low water solubility and stability, so that to improve stability and acceptability is by making Pterostilbene Transfersome. Transfersome consisted of phospholipid in the form of phosphatidylcholine as a forming component of vesicles, surfactants as Edge activators, which increased transfersome's flexibility. The composition of lecithin as phospholipid and surfactant was variable that effecting the optimization of Transferome. This study aimed to determine the effect of the ratio between soy lecithin as phospholipid and sodium cholate as surfactants to particle size. Comparison used was soybean lecithin 94%: 6% sodium cholate (F1); 95% soybeans: 5% sodium cholate (F2); and soybean 96%: 4% sodium cholate (F3). The prepared formulations were characterized for organoleptic, pH, particle size analysis and potential zeta analysis. The characterized were statistically analyzed with SPSS One-way ANOVA followed by Post Hoc Turkey, and Paired T-Test. Transfersom had whitish-yellow color with clarity were cloudy and soya-flavored, the particle size were <400nm with pdi <0.5 and zeta potential values > -30 mV. Based on the results, optimum transfersome formulation was 95% soybeans: 5% cholic acid (F2).

1. Pendahuluan

Proses penuaan merupakan fenomena yang dapat menyebabkan beberapa penyakit kronis karena respon inflamasi. *Inflammaging* merupakan inflamasi sistemik yang disebabkan oleh proses penuaan tanpa adanya infeksi dari luar dan merupakan faktor yang sangat tinggi mempengaruhi morbiditas dan mortalitas pada orang tua. Terdapat bukti epidemiologis bahwa terjadi keadaan inflamasi ringan pada orang tua, yaitu melalui biomarker C-reactive protein dan interleukin-6 (IL-6). Sehingga, pada orang tua prevalensi terjadinya kondisi yang disebabkan oleh inflamasi menjadi meningkat seperti terjadinya obesitas, keterbatasan aktivitas fisik, penyakit kardiovaskular, diabetes, gagal ginjal kronik, osteoarthritis, dan penyakit alzheimer¹.

Selama 20 tahun terakhir, beberapa penelitian menunjukkan bahwa makanan yang mengandung polifenol dapat mencegah penyakit kronis tersebut melalui pencegahan oksidasi dan inflamasi. Polifenol banyak terkandung pada Resveratrol dan Pterostilben, namun bioavailabilitas dari Resveratrol lebih rendah. Pterostilben yang terkandung dalam *blueberries* dapat mencegah inflamasi dan oksidasi dengan menghambat aktivasi dari *Nitrogen-Activated Protein Kinase* (MPAK) dan mengaktivasi *Nuclear factor Erythroid 2-related factor* (Nrf2)².

Pterostilben merupakan sebuah komponen kimia yang terkandung dalam *blueberries*. Kandungan pterostilben berbeda-beda pada tiap *berries* (Tsai) Pterostilben memiliki nilai potensial untuk digunakan sebagai terapi, di India pterostilben digunakan pada *Ayuverdic Medicines* yang merupakan panduan pengobatan herbal sejak lama dan digunakan untuk mengobati diabetes, dan beberapa penyakit lainnya. Namun pterostilben memiliki kelarutan air rendah (0,011 g/L) dan stabilitas yang rendah karena gugus *phenolic hydroxyl* pada pterostilben mudah teroksidasi dan konfigurasi *trans* pada struktur pterostilben akan berubah menjadi konfigurasi *cis* yang tidak memiliki aktivitas farmakologi³.

Rute transdermal merupakan penghantaran obat melalui kulit ke sistemik yang dapat menghindari *first pass metabolism*, pelepasan obat yang terkontrol, mengurangi efek samping obat, meningkatkan efek farmakologi, menghindari fluktuasi kadar obat, dan nyaman digunakan sehingga dapat meningkatkan kepatuhan pasien. Namun penghantaran rute transdermal masih jarang digunakan, karena obat sulit melewati stratum korneum yang merupakan sebuah lapisan lipid. Sehingga, untuk meningkatkan permeabilitas kulit yaitu dengan menggunakan sistem penghantaran⁴.

Metode penghantaran obat melalui rute transdermal yaitu liposom, niosom, etosom dan transfersom⁵. Transfersom digunakan karena menurut Quashawy Transfersom merupakan *ultra-flexible vesicles* yang memiliki bilayer yang dapat menembus kulit dengan mudah dan mengatasi penghalang berupa stratum korneum dengan menekan struktur lipid dari stratum korneum.

Setelah diaplikasikan pada kulit, transfersom akan menembus stratum korneum dan menuju kedalam lapisan lipofil yang lebih dalam berdasarkan perubahan gradien osmotik⁶. Transfersom diantaranya dapat deformasi dan melewati pori yang ukurannya 5-10 kali lebih kecil dari diameternya, memiliki efisiensi penjerapan (*Entrapment efficiency*) yang tinggi dimana pada obat yang bersifat lipofilik dapat mencapai 90%, Transfersom tersusun atas komponen hidrofobik dan hidrofilik sehingga dapat digunakan untuk obat yang memiliki kelarutan yang rendah⁷.

Transfersom adalah vesikel elastis yang pertama kali dikenalkan pada awal tahun 1990 oleh Cevc dan Blume. Transfersom berupa vesikel-vesikel cair dengan membran yang mudah untuk deformasi berdasarkan perubahan gradien osmotik yang mengakibatkan transfersom mudah untuk permeasi kedalam kulit melalui pori-pori yang sangat kecil yaitu kurang dari 30 nm⁷.

Menurut Sachan, transfersom terdiri dari fosfolipid berupa *phosphatidyl choline* sebagai komponen pembentuk vesikel, surfaktan sebagai *Edge activators* yaitu untuk meningkatkan fleksibilitas transfersom, alkohol sebagai pelarut dan larutan buffer sebagai media penghidrasi. Komposisi dari Lesitin sebagai fosfolipid dan Surfaktan merupakan suatu variabel yang dapat mempengaruhi optimasi formula dari Transfersom⁷.

Lesitin kedelai memiliki indeks deformabilitas membran yang lebih besar dibandingkan dengan lesitin telur yaitu 139,29 untuk Lesitin kedelai dan 67,26 untuk lesitin telur, sehingga kemampuan interaksi lesitin soya dengan surfaktan akan lebih tinggi dibandingkan dengan lesitin telur⁸. Selain itu, menurut Xu Qingyi lesitin telur yang berasal dari hewan lebih mahal dan jarang digunakan untuk proses industri, oleh karena itu lebih banyak digunakan lesitin kedelai. Sehingga dipilih lesitin kedelai sebagai fosfolipid dalam penelitian ini⁹.

Beberapa surfaktan yang dapat digunakan untuk formulasi transfersom adalah surfaktan rantai tunggal dengan kemampuan mendestabilisasi lipid bilayer sehingga meningkatkan deformabilitas transfersom, diantaranya yaitu *Sodium Cholate*, *Sodium Deoxycholate*, Span 60, Span 65, Span 80, Tween 20, Tween 60, Tween 80, dan *dipotassium glycyrrizinate*. Semakin rendah rantai karbon pada surfaktan akan meningkatkan *Entrapment Efficiency* (EE). Sehingga, penggunaan *Sodium Cholate* (Asam Kolat, C24) memiliki nilai EE yang lebih tinggi, kemampuan penetrasi pada kulit lebih tinggi dan memiliki ukuran partikel yang lebih kecil¹⁰. Selain itu penggunaan asam kolat dapat meningkatkan fleksibilitas pada membran lipid bilayer dari vesikel lesitin, sehingga memungkinkan transfersom melewati pori pori yang lebih kecil ukurannya dari ukuran vesikel secara spontan¹¹. Sehingga pada penelitian ini menggunakan Asam Kolat sebagai Surfaktan dalam pembuatan Transfersom.

Menurut Chauhan, ukuran partikel merupakan bagian penting dalam proses pembuatan transfersom yang optimal¹². Ukuran partikel yang kecil yaitu <40 nm

merupakan pembawa yang mudah mengecil melewati pori pada stratum korneum dan meningkatkan penetrasi dari obat¹³. Sehingga ukuran partikel berperan penting untuk penetrasi dari transfersom.

Menurut Zaafarany, perbandingan konsentrasi ekstrak dan lipid (surfaktan dan fosfatidilkolin) yang optimum yaitu 1:5, sehingga untuk 168 mg pterostilben digunakan sejumlah 840 mg komposisi fosfatidilkolin dan surfaktan, dan dengan menggunakan perbandingan lesitin kedelai dan asam kolat 95:5 menghasilkan transfersom dengan karakteristik yang baik, sehingga $\pm 1\%$ untuk mengetahui signifikansi pengaruh dari perbandingan terhadap karakteristik transfersom⁶.

2. Metode

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Pterostilben (ChromaDex[®]), Lesitin Kedelai (Sonic Biochem[®]) Asam Kolat (CV Gamma Scientific Lab) , Kloroform (CV Duta Jaya), dan larutan buffer fosfat pH 7,4.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *beaker glass* 100 ml (Pyrex), gelas ukur 10 ml (Pyrex), lemari es (LG), pipet tetes, pipet ukur (Superior), gelas arloji, batang pengaduk, neraca analitik (OHAUS CP214), *rotary evaporator* (IKA[®] RV 10 basic), Pompa vakum (Vacuubrand[®]), *ultra-turrax* (IKA[®] T25 digital), pH meter (SCHOOT[®] instrument), *Malvern Zetasizer instrument*.

Formulasi Transfersom Pterostilben

Penelitian ini menggunakan tiga kelompok formula yakni F1, F2, F3. Dimana F1 merupakan transfersom yang memiliki perbandingan komposisi Lesitin Kedelai dan Asam Kolat 94:6, F2 yang memiliki perbandingan komposisi Lesitin Kedelai dan Asam Kolat 95:5 dan F3 yang memiliki perbandingan komposisi Lesitin Kedelai dan Asam Kolat 96:4, masing masing formula dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Serta digunakan formula kontrol yaitu tiga kelompok formula tanpa adanya zat aktif Pterostilben

Pembuatan Transfersom Pterostilben

Transfersom dibuat dengan mencampurkan Lesitin Kedelai dan asam kolat yaitu F1 (Lesitin Kedelai (94%) : Asam Kolat (6%)), F2 (Lesitin Kedelai (95%) : Asam Kolat (5%)) dan F3 (Lesitin Kedelai (96%) : Asam Kolat (4%)) yang dilarutkan pada pelarut organik yaitu kloroform sebanyak 10 mL dalam labu alas bulat 1000 mL. Larutan organik kemudian akan hilang dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Lapisan film yang dihasilkan kemudian dihidrasi dengan menggunakan larutan buffer fosfat pH 7,4 dengan menggunakan *rotary evaporation* selama 1 jam pada suhu ruang, kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 2 jam dan untuk memperkecil ukuran dari vesikel dengan *ultra turax* pada kecepatan 8000 rpm selama 30

menit. Transfersom pterostilben disimpan pada suhu 4°C.

Karakterisasi Transfersom Pterostilben

1) Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan melihat warna dan konsistensi serta mencium bau dari sediaan¹⁴.

2) Uji pH

Pengukuran pH dengan menggunakan pH meter yang mampu mengukur hingga 0,02 unit pH¹⁵.

3) Ukuran partikel

Metode pengukuran partikel dilakukan dengan melarutkan 100µl sampel pada larutan buffer fosfat pH 7,4 sebanyak 4 ml kemudian diukur dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* pada suhu 25°C dan dilakukan duplikasi sebanyak 3 kali¹⁶.

4) Uji Potensial Zeta

Metode pengukuran potensial zeta dilakukan dengan melarutkan 100µl sampel pada larutan buffer fosfat pH 7,4 sebanyak 4 ml kemudian diukur dengan menggunakan *Zetasizer* pada suhu 25°C¹⁶.

Analisis Data Statistik

Analisis statistik yang digunakan pada penelitian ini yaitu uji statistik *One-Way ANOVA* dengan menggunakan *software IBM SPSS Statistic 20*. Uji *One-way ANOVA* yang bersyaratkan bahwa dua kelompok data yang dibandingkan harus memiliki distribusi yang normal dan memiliki varians data yang homogen. Oleh karena itu, pengujian distribusi normal dengan menggunakan *Shapiro Wilk Test* untuk sampel kurang dari 50 dan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's test*. Kedua hasil harus memenuhi nilai signifikansi lebih dari 0,5 ($p > 0,05$) agar *One-Way ANOVA* dapat diterima. Apabila hasil uji menunjukkan $p < 0,05$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada kelompok uji, sedangkan apabila $p > 0,05$ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna. Kemudian Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna, maka dilakukan uji *Post-Hoc*. Jika $p < 0,05$ menunjukkan bahwa kedua kelompok memiliki perbedaan yang bermakna. Kemudian analisa dilanjutkan dengan uji *T-Test* yang digunakan untuk membandingkan nilai rata-rata 2 kelompok, jika sampel memenuhi kondisi normalitas.

3. Hasil dan Diskusi

Pterostilben memiliki efek untuk menurunkan resiko terjadinya penyakit kronis pada orangtua melalui anti oksidan dan anti inflamasi. Pterostilben dengan dosis 50 (µg/mL) pada mencit memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan¹⁷. Dosis pada manusia dosis yang digunakan berdasarkan perhitungan yaitu 2.8 mg/mL, sehingga untuk membuat transfersom 60 mL dibutuhkan 168 mg pterostilben. Namun karena pterostilben memiliki kelarutan air yang rendah (0,011 g/L) dan stabilitas yang rendah, sehingga penting untuk mengembangkan penghantaran pterostilben untuk meningkatkan kelarutan dan stabilitas dari pterostilben³. Pterostilben juga dapat mengalami first

pass metabolisme yaitu menurunkan kadar pterostilben sebelum masuk pada sirkulasi sistemik, dimana akan dimetabolisme di hati menjadi sulfat dan glucronida yang tidak memiliki efek terapeutik. Pterostilben memiliki kelarutan yang rendah dikarenakan memiliki 2 gugus metoksi yang mengakibatkan pterostilben menjadi lebih lipofil, dan sulit larut dalam air. Sehingga, penggunaan sistem penghantaran seperti Transfersom dapat meningkatkan absorpsi secara topikal, kinerja dan faktor sensorik dari komponen fenol akan meningkat¹⁸.

Transfersom terdiri dari fosfatidilkolin dan surfaktan atau edge activator. Fosfatidilkolin lesitin kedelai digunakan untuk membentuk membran, dimana memiliki struktur bilayer seperti kulit, selain itu surfaktan asam kolat digunakan untuk meningkatkan fleksibilitas dari transfersom¹⁹.

Digunakan kloroform sebagai pelarut, dan buffer fosfat pH 7,4 sebagai agen penghidrasi. Digunakan pelarut kloroform dikarenakan kloroform memiliki titik didih lebih tinggi setidaknya 10⁰C dibandingkan dengan suhu transisi dari fosfatidilkolin yaitu 41⁰C, suhu transisi merupakan suhu dimana terjadi perubahan fase lipid menjadi cair²⁰. Selain itu, lesitin kedelai tidak larut pada pelarut polar maupun air, sehingga tidak digunakan pelarut polar, seperti etanol maupun metanol²¹. Digunakan larutan dapar untuk melarutkan molekul biologis dan mempertahankan rentang pH konstan untuk melindungi fungsi-struktur dan menghindari degradasi yang dikatalisasi oleh asam atau basa²². Transfersom pterostilben dibuat dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis, dimana metode hidrasi lapis tipis merupakan metode yang efektif dan sederhana dibandingkan dengan metode vortex, pada metode lapis tipis dapat menghasilkan hasil Entrapment efficiency yang lebih tinggi karena bentuk lapisan lipid memiliki luas permukaan yang besar sehingga memungkinkan lapisan dapat terhidrasi secara maksimal. Sebaliknya, pada metode vortex, lipid cenderung membentuk agregat dan menempel pada dinding vortex sehingga membuat proses hidrasi menjadi sulit sehingga menghasilkan suspensi dispersi yang kental dan sulit untuk dihomogenasi serta memungkinkan untuk terjadi sedimentasi dan mudah untuk agregasi⁶.

Transfersom pterostilben yang telah diperoleh kemudian dilakukan uji organoleptis. Pada uji organoleptis, transfersom diamati dengan menggunakan indra dan dikarakterisasi terkait bau, warna, kejernihan, dan bentuk dari transfersom pterostilben. Hasil uji organoleptis, diperoleh transfersom formula yang tidak mengandung bahan aktif pterostilben (K) untuk ketiga formula berwarna kuning pucat, berbau khas lesitin, dan tingkat kejernihan sedikit keruh. Bau khas lesitin diperoleh dari lesitin kedelai yang digunakan. Warna Kuning transfersom diperoleh dari warna lesitin kedelai yang digunakan, yaitu kuning kecoklatan. Sedangkan warna untuk formula dengan bahan aktif pterostilben (F) untuk F1, F2, dan F3 berwarna kuning keputihan, karena pterostilben adalah berwarna putih. Pada formula dengan bahan aktif pterostilben (F) diperoleh tingkat kejernihan yang keruh, semakin jernih

cairan maka semakin kecil ukuran partikel yang terdispersi dalam medium²³. Hal tersebut sesuai dengan pengamatan yang didapat yaitu, kejernihan dari formula kontrol (K1, K2, dan K3) lebih jernih dibandingkan dengan formula (F1, F2, dan F3), dan ukuran partikel yang didapatkan lebih kecil untuk K1 dibandingkan dengan F1, K2 dengan F2, dan K3 dengan F3.

Tabel 1. Hasil Organoleptik Transfersom Pterostilben

Formula	Warna	Bau	Kejernihan	Bentuk
K1	Kuning muda	Khas lesitin	Sedikit Keruh	Cair
K2	Kuning muda	Khas lesitin	Sedikit Keruh	Cair
K3	Kuning muda	Khas lesitin	Sedikit Keruh	Cair
F1	Kuning keputihan	Khas lesitin	Keruh	Cair
F2	Kuning keputihan	Khas lesitin	Keruh	Cair
F3	Kuning keputihan	Khas lesitin	Keruh	Cair

evaluasi pH transfersom dengan menggunakan pH meter SCHOOT® instrument, diperoleh hasil pH untuk transfersom tanpa pterostilben paling besar adalah K3 yaitu (7,642 ± 0,015), lalu K2 (7,533 ± 0,001) dan terkecil K1 (7,512 ± 0,005). Sedangkan untuk transfersom dengan pterostilben paling besar yaitu F3 (7,533 ± 0,008), lalu F2 (7,495 ± 0,037) dan paling kecil F1 (7,512 ± 0,005). Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan perbandingan lesitin kedelai 96%: asam kolat 4% menghasilkan pH yang lebih besar. pH yang sesuai sangat penting untuk penghantaran obat rute transdermal ataupun topikal, karena mempengaruhi solubilitas, stabilitas obat, serta aplikasi kedalam kulit²⁴. Untuk merubah pH sediaan, dengan menggunakan larutan buffer yang memiliki pH sesuai dengan kulit. Selain itu, untuk meningkatkan penetrasi ke kulit bersamaan dengan penggunaan kapasitas buffer. Dengan kata lain, perubahan pH menghasilkan pengembangan penghantaran obat. pH kulit normal yaitu pada pH 7-9²⁵. Pada penelitian ini telah sesuai dengan spesifikasi yang ditetapkan yaitu 4.5-8 dimana kulit dapat beradaptasi dengan sediaan dengan pH 4.5-8²⁶. Hasil uji pH sediaan transfersom yaitu 7,4 ± 0,2 dikarenakan media hidrasi yang digunakan yaitu buffer fosfat dengan pH 7,4. pH sediaan transfersom akan dipengaruhi oleh pH media hidrasi²⁷.

Tabel 2. Hasil Uji Karakterisasi Transfersom Pterostilben

Formula	Ukuran Partikel (Rerata ± SD nm)	PDI (Rerata ± SD)	Potensial Zeta (Rerata ± SD mV)
K1	223,33 ± 0,611	0,269 ± 0,0098	-14,43 ± 0,950
K2	171,43 ± 0,805	0,15 ± 0,0125	-17,40 ± 0,500
K3	203,73 ± 0,929	0,258 ± 0,021	-18,70 ± 0,361
F1	325,5 ± 10,235	0,356 ± 0,061	-17,99 ± 1,073
F2	195,46 ± 13,23	0,197 ± 0,056	-18,02 ± 0,589
F3	280 ± 7,525	0,186 ± 0,056	-21,4 ± 2,601

Keterangan: K=tanpa pterostilben; F=dengan pterostilben;

K1 & F1=Lechitin Kedelai 94%: Asam Kolat 6%; K2 & F2= Lechitin Kedelai 95%: Asam Kolat 5%;
K3 & F3= Lechitin Kedelai 96%: Asam Kolat 4%; n=3

Hasil evaluasi ukuran partikel, didapatkan rata-rata ukuran partikel dari ukuran yang paling kecil hingga paling besar berturut-turut yaitu transfersom dengan perbandingan lesitin kedelai 95%: asam kolat 5% , lalu lesitin kedelai 96%: asam kolat 4% dan lesitin kedelai 94%: asam kolat 6%, dan paling besar lesitin kedelai 96%: asam kolat 4%. Seluruh formula yang dibuat telah memenuhi spesifikasi, yaitu ukuran partikel kurang dari 400 nm yang dapat melewati stratum korneum²⁸.

Dari hasil analisis statistik One-Way ANOVA ukuran partikel, diperoleh nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok kontrol (tanpa pterostilben) dan kelompok formula (dengan pterostilben). Hasil uji Post-hoc Turkey diperoleh nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ukuran partikel pada seluruh kelompok data. Pada hasil uji Paired T-Test didapatkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari penambahan bahan aktif pterostilben terhadap peningkatan ukuran partikel transfersom pterostilben.

Perbandingan konsentrasi lesitin kedelai dan asam kolat memberikan pengaruh terhadap ukuran partikel. Peningkatan jumlah fosfatidilkolin akan meningkatkan ukuran partikel dari dispersi transfersom yang dihasilkan, sedangkan peningkatan surfaktan akan menurunkan ukuran partikel dari dispersi transfersom²⁹. Menurut Hasani *et al* (2015) peningkatan jumlah surfaktan akan menghasilkan ukuran droplet akan mengecil dan distribusi ukuran yang seragam karena peningkatan konsentrasi surfaktan akan menghasilkan jumlah surfaktan yang meningkat dan terjadi migrasi surfaktan dari fase minyak ke fase air dari emulsi dan terbentuk ukuran nano³⁰. Selain itu, untuk mendapatkan ukuran yang kecil, yaitu memiliki luas permukaan yang besar, maka membutuhkan lebih banyak surfaktan untuk menyelimuti permukaan vesikel³¹. Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini, diketahui bahwa pada lesitin kedelai 96%: asam kolat 4%(F3) lalu konsentrasi surfaktan ditingkatkan menjadi lesitin kedelai 95%: asam kolat 5% (F2) ukuran partikel berkurang dari $280 \pm 7,525$ menjadi $195,46 \pm 13,23$.

Namun pada perbandingan lesitin kedelai 95%: asam kolat 5%(F2) lalu konsentrasi surfaktan ditingkatkan menjadi lesitin kedelai 94%: asam kolat 6% (F1) menghasilkan peningkatan ukuran partikel dari $195,46 \pm 13,23$ nm menjadi $325,5 \pm 10,235$ nm . Dengan peningkatan konsentrasi surfaktan, ketika sudah memenuhi lapisan permukaan, surfaktan yang bebas akan membentuk misel pada fase kontinu (media) sehingga menghasilkan peningkatan tekanan osmotik lokal dan terjadi deplesi (penipisan) fase kontinu pada droplet dan terjadi peningkatan ukuran partikel³².

Didapatkan ukuran transfersom pada kontrol (tanpa pterostilben) lebih kecil dibandingkan dengan transfersom yang menggunakan pterostilben ($p < 0,05$). Pada konsentrasi kedelai 94%: asam kolat 6%, untuk formula kontrol (K1) mendapatkan ukuran partikel $223,33 \pm 0,611$ nm dan pada formula dengan pterostilben (F1) meningkat menjadi $325,5 \pm 10,235$ nm. Pada konsentrasi lesitin kedelai 95%: asam kolat 5%, pada formula kontrol (K2) diperoleh ukuran $171,43 \pm 0,805$ nm dan pada formula dengan pterostilben (F2) meningkat menjadi $195,46 \pm 13,23$ nm. Sedangkan pada konsentrasi lesitin kedelai 96%: asam kolat 5%, untuk formula kontrol diperoleh ukuran partikel $203,73 \pm 0,929$ nm dan untuk formula dengan pterostilben meningkat menjadi $280 \pm 7,525$ nm. Hal tersebut menunjukkan bahwa bahan aktif pterostilben terenkapsulasi dalam vesikel.

Pada penelitian ini, ukuran vesikel juga dipengaruhi oleh metode pengecilan ukuran partikel dengan ultra turrax. Tahap tersebut digunakan sebagai variabel kendali, karena antar formula diberikan perlakuan sama.

Hasil uji indeks polidispersitas untuk menunjukkan derajat distribusi ukuran partikel untuk seluruh formula menghasilkan nilai kurang dari 0,5 nilai polidispersitas $< 0,5$ memiliki rentang distribusi dan ukuran yang homogen yang menunjukkan vesikel yang homogen dengan stabilitas fisik yang tinggi. Semakin dekat nilai indeks polidispersitas dengan 0, yaitu rentang 0-0.1 maka semakin homogen ukuran vesikel⁵.

Potensial zeta digunakan untuk mengetahui stabilitas dari penyimpanan suatu vesikel. Menurut Surini (2018) Potensial zeta merupakan ukuran dari potensial elektrostatik atau gaya tolak menolak antara matan elektrik antar partikel suspensi, potensial zeta dapat menunjukkan bahwa partikel dalam suspensi dapat mengalami suspensi ataupun agregasi. Suatu sampel dapat dikatakan stabil jika memiliki nilai potensial zeta lebih dari +30 mV atau lebih dari -30mV³³. Sedangkan nilai potensial zeta pada transfersom pterostilben diperoleh nilai potensial zeta negatif dengan rentang -14,43 mV sampai -18,70 mV untuk transfersom tanpa pterostilben (K) dan nilai potensial zeta untuk transfersom dengan pterostilben yaitu -17,99 mV sampai -21,4 mV. Sehingga hasil yang didapatkan tidak sesuai dengan spesifikasi yang ditetapkan.

Nilai potensial zeta yang negatif dikarenakan komponen fosfatidilkolin yang digunakan. Lesitin kedelai merupakan komponen zwitterionic dengan titik isoelektrik diantara 6-7, sedangkan media hidrasi yang digunakan adalah pH 7,4. Pada kondisi pH lebih tinggi dari titik isoelektrik, lesitin kedelai memiliki muatan negatif. Selain itu, nilai potensial zeta yang kecil sehingga tidak memenuhi spesifikasi karena surfaktan yang digunakan merupakan surfaktan anionik¹⁰.

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa perbandingan konsentrasi lesitin kedelai dan asam kolat berpengaruh terhadap ukuran partikel transfersom pterostilben. Formulasi transfersom yang optimum menghasilkan ukuran partikel paling kecil adalah formulasi dengan perbandingan lesitin kedelai 95% : asam kolat 5%.

Pada formulasi transfersom pterostilben, untuk menentukan formula yang optimum hanya terbatas pada perbandingan fosfatidilkolin dan surfaktan, namun perbandingan surfaktan, fosfatidilkolin dan pelarut terhadap ukuran vesikel belum diteliti pada penelitian ini. Pada karakterisasi transfersom, tidak dilakukan uji morfologi untuk mengetahui bentuk morfologi dari vesikel transfersom dengan menggunakan Transmission Electron Microscope (TEM), uji efisiensi penyerapan untuk mengetahui persentase pterostilben yang terjerap dalam transfersom, serta uji deformabilitas untuk mengetahui kemampuan transfersom untuk deformasi. Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini antara lain dapat dilakukan penelitian terkait perbandingan surfaktan, fosfatidilkolin dan pelarut terhadap karakteristik fisikokimia transfersom, serta dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terkait evaluasi aktivitas farmakologi dan aplikasinya di bidang industri farmasi.

4. Daftar Pustaka

1. Woods, Jeffrey A., Kenneth R., Stephen A., dan Brandon M. Exercise, Inflammation, and Aging. *Aging and Disease*, 2011, 3(1): 130-140.
2. Li, Y.R., Shiming LI., dan Chi-Chien Li. Effect of Resveratrol and Pterostilbene on Aging and Longevity. *BioFactors*, 2017, 44(1):69-82
3. Zhang, Y.m Zhenhua S., Chunhui G., Man D., Shixia X., Haiwen S., *et al.* Nanoemulsion for Solubilization, Stabilization, and In Vitro Release of Pterostilbene for Oral Delivery. *American Associations of Pharmaceutical Scientists*, 2014, p. 1-9.
4. Grace, XF., Ragul RS., Shanmuganathan S., dan Chamundeeswari D. 2014. Transfersomes-A Novel Carrier in Transdermal Drug Delivery Technology. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 2014, 4(8): 3477-3481.
5. Shilakari, Gyati., Davinder Singh, dan Abay Asthana. Novel Vesicular for Topical Drug Delivery and Their Application's. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2013, 21(1): 77-86.
6. Quashawy, M., Ali Nasr., Mohammed Abd-Alhaseeb., dan Shady Swaldan. 2018. Design, Optimization, and Characterization of a Transfersomal Gel Using Miconazole Nitrate for the Treatment of Candida Skin Infections. *Pharmaceutis*, p. 10-26.
7. Zaafarany. G., Samar M., dan Nahed D. Role of Edge Activators and Surface Change In Developing Ultradeformable Vesicles with Enhanced Skin Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010, 397: 164-172.
8. Sachan R., Tarun P., Soniya., Visal S., Gaurav S., Satyanand T., *et al.* Drug Carrier Transfersomes: A Novel Tool For Transdermal Drug Delivery System. *International of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*, 2013, 2(2): 309-316.
9. Yusuf, Mohd., Vijay Sharma., dan Kamala Pathak. Nanovesicles for Transdermal Delivery of Felodipine: Development, Characterization, and Pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2014, 4(3): 119-30.
10. Xu, Qingyi., Mitsutoshi Nakajima., Zagshe Liu., dan Takeo Shiina. 2011. *Soybean- Applications and Technology*. China: InTech.
11. Duangjit, Sureewan., Preneet Opanasopit., Theerasak Rojanarta., dan Tanasit Ngahirunpat. 2010. Characterization an *In Vitro* Skin Permeation of Meloxicam-Load Liposomes Versus Transfersomes. *Journal of Drug Delivery*, p. 1-9.
12. Boinpally, Ramesh R., Sen-Lin Zhou., Srinivasu Poondru., Gopinath Devraj., dan Bhaskara R. Lechitin Vesicles for Topical Delivery of Diclofenac. 2003. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 56 (2003) 389-392.
13. Chauhan, Neelam., Kapil Kumar, dan Navin Chandra Pant. An Updated Review on Transfersomes: A Novel Vesicular System for Transdermal Drug Delivery. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*, 2017, 2(4): 49-52.
14. Shuwaili, Ahmed H., Bazigha K., dan Alaa A. Optimization of Elastic Transfersomes Formulations for Transdermal Delivery of Pentoxifyline. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2016 xxx: 1-14.
15. Ardana, M., Vebry A., and Arsyik I. Formulasi dan Optimasi Basis Gel HPMC (Hydroxy propyl methyl cellulose) dengan Berbagai Variasi Konsentrasi. *Trop. Pharm. Chem*, 2015, 3 (2): 101-108.
16. Saraf, Swarnlata., Gunjan Jeswani., Chanchal Deep., dan Shailendra Saraf. Development of Novel Herbal Cosmetic Cream with *Curcuma longa* Extract Loaded Transfersomes for Antiwrinkle Effect. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2011, 5(8): pp1054-1062.
17. Alvi, Iqrar Ali., Jitender Madan., Dinesh Kaushik., Satish Sardana., Ravi Shankar., dan Asgar Ali. 2011. Comparative Study of Transfersomes, Liposomes, dan Niosomes for Topical Delivery of 5-Fluorouracil to Skin Cancer Cells: Preparation, Characterization, in-vitro release, dan Cytotoxicity Analysis. *Anti Cancer Drugs*. 2011. Vol 22 No 8, 774-772.
18. Acharya, Jhankar D., dan Saroj S. Protective Effect of Pterostilbene Against Free Radical Mediated Oxidative Damage. *BMC Complementary & Alternative Medicine*, 2013, 13:228.
19. Maghdalena, Dzialo., Justyana Mierziak, Urszula Korzun., Marta Preisner., Jan Szopa., *et al.* The Potential of Plant Phenolics in Prevention and Therapy of Skin Disorders, *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17, 160.
20. Pawar, Aishish., Khanderao R., dan Laxmikant H. Transfersome: A Novel Technique Which Improves Transdermal Permeability. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 2016, 10(4): 426

21. Mozafari, M.R., Johnson, C., Hatziantoniou,S., dan Demetzos,C. Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of Liposome Research*, 2008, 18(4): 309-327.
22. Rowe, Rarmond C., Paul J Sheskey, dan Marian E Quin. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*. Pharmaceutical Press (PhP). Washington.
23. Delong, Robert K., dan Qiongqiong Zhu. 2016. *Introductory Experiments on Biomolecules and their Interactions*. USA: Elsevier B.V.
24. Tanjung, Yenni Puspita. Formulasi, Evaluasi, Serta Uji Sitotoksik Terhadap Sel Kanker MCF-7 dari Sistem Nanopartikel Polimerik Polyvinyl Pyrrolidone dengan Zarah Aktif Kurkumin. *IJAS*, 2013, vol 3(3): p 94-100.
25. Surber C, AbelsC, dan Malbach H. pH of the Skin: Issues and Challenges. *Curr Probl Dermatol*, 2018, vol 54, pp143-151.
26. Ali, Saba M., dan Gil Yosipovitch. Skin pH: From Basic SciencetBasic Skin Care. *Acta derm Venerol*, 2013, 93: 261-267.
27. Hasniar., Yusriadi., dan Akhmad. Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Daun Kapas (*Gossypium* sp). *Journal of Pharmacy*, 2015, 1(1): 9-15.
28. Ramadhan, Rhesa. 2015. Formulasi dan Karakterisasi *Transfersom yang Mengandung verapamil Hidroklorida*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
29. Saraf, Swarnlata., Gunjan Jeswani., Chanchal Deep., dan Shailendra Saraf. Development of Novel Herbal Cosmetic Cream with *Curcuma longa* Extract Loaded Transfersomes for Antiwinkle Effect. *africian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2011, 5(8): pp1054-1062.
30. Hasani, Fardin., Akram Pezeshki, dan Hamed Hamishekhar, Effect of Surfactant and OilType on Size Droplets of Betacarotene-Bearing Nanoemulsions, *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 2015, 4(9):146-155.
31. Ita, Kevin B., Jan Du Preez, Majella E., Jonathan Hadgraft., dan Jaenetta du Plessis. Dermal Delivery of Selected Hydrophilic Drug from Elastic Liposomes Effect of Phospholipid formulation and surfactants. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2007, 59: 1215-1222.
32. Wulff-Perez, A., Torcello-Gomez, M.J., Rodr guez, M. Stability of emulsions for parenteral feeding: Preparation and characterization of o/w nanoemulsions with natural oils and Pluronic f68 as surfactant. *Food Hydrocolloids*. 2019. 23: 1096 1102.
33. Surini, S., Sarah., Joshita D. Formulation and in vitro Penetration Study of Transfersomes Gel Containing Gotu Kola Leaves Extract (*Centella asiatica* L. Urban). *Journal of Young Pharmacist*, 2018, 10 (1): 27-31.