

KARAKTERISTIK FISIKA DAN pH SEDIAAN LIPOSOM KOENZIM Q₁₀ DAN GLUTATHION SEBAGAI ANTI AGING

Sofani Lega Armia, Ni Luh Dewi A.

Fakultas Farmasi
Fanny.armia@gmail.com

Abstrak-Penuaan kulit merupakan proses biologis yang berlangsung secara alami dan sejalan dengan penambahan usia. Namun faktor ekstrinsik karena radikal bebas merupakan faktor utama yang mempercepat penuaan kulit. Koenzim Q₁₀ dan Glutathion mempunyai aktifitas tinggi sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel kulit karena radikal bebas. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan sediaan kosmetik *antiaging* dengan sistem penghantaran liposom untuk meningkatkan penetrasi di kulit. Formulasi Liposom dibuat dengan 2 formula menggunakan metode hidrasi lapis tipis, formula I merupakan basis liposom dan formula II merupakan liposom dengan bahan aktif Koenzim Q₁₀ dan Glutathion. Kedua formula dilakukan uji karakteristik fisika, distribusi ukuran partikel, pH, dan persen penjerapan bahan aktif. Hasil Penelitian dari kedua formula menunjukkan adanya perbedaan karakter fisika dari organoleptis, hasil distribusi ukuran partikel, dan untuk hasil penjerapan bahan aktif tidak sesuai spesifikasi. Akan tetapi tidak ada perbedaan pada hasil pH.

Kata Kunci : *Antiaging*, Liposom, Karakteristik fisika, Koenzim Q₁₀, Glutathion.

Abstract-Skin aging is a biological process that occurs naturally and coincides with increase of the age. But extrinsic factor caused free radical is a major factor that accelerates skin aging. Coenzym Q₁₀ and Glutathione have high antioxidant activity that can prevent skin cell damage caused by free radical. In this research is made cosmetic antiaging formulations with liposomal delivery system to increase skin penetration. Formulation liposomes made with 2 formula used thin film hydration method. First formula is a basis of liposome, and second formula is a liposome with Coenzym Q₁₀ and Glutathione. A liposome and liposome base formulation has been performed with the active ingredient Coenzyme Q₁₀ and Glutathione to physical and pH characteristics. The result of this study are two formulations show that there is difference in the physical character consisting of organoleptic, particle size, and specifications for entrapment of drug not meeting specifications. However, there is no difference in pH.

Keyword : Liposomes, physical character, Coenzym Q₁₀, Glutathione.

PENDAHULUAN

Radikal bebas secara alami terdapat di dalam tubuh dan kondisi lingkungan luar akibat paparan sinar ultraviolet, radiasi, asap rokok, dan polusi udara yang menyebabkan terjadinya penuaan dini (Martina, 2009). Salah satu organ tubuh yang rentan terhadap adanya radikal bebas adalah kulit. Pada sel kulit radikal bebas akan merusak senyawa lemak pada membran sel, efeknya kulit kehilangan elastisitas dan timbul penuaan kulit, yaitu kulit kering dan kasar, kendur, keriput serta bintik kecoklatan (*hiperpigmentasi*) (Muhtaram, 2013).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Simanjuntak, *et al.*, 2012). Pemberian antioksidan dapat menghindari efek negatif kulit karena radikal bebas, karena antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga menghindari dan mengurangi kerusakan oksidatif (Wanasundara and Shahidi, 2005). Sehingga penggunaan antioksidan sangat penting untuk perawatan anti penuaan dini (Burgest, 2005).

Umumnya ada dua jenis antioksidan, yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Namun, kemampuan tubuh untuk menghasilkan antioksidan endogen sangat kurang efektif dan cenderung menurun potensinya seiring dengan penambahan usia. Antioksidan endogen dikelompokkan menjadi antioksidan enzimatik dan non-enzimatik. (Ruza Pandel, B. Poljsak *et al.*, 2013)

Koenzim Q₁₀ adalah salah satu antioksidan endogen non enzimatik yang juga disebut sebagai *Ubiquinone* (Gaby RA, 1996). Koenzim Q₁₀ merupakan satu-satunya antioksidan alami yang larut dalam lemak (*lipid-soluble*) dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Koenzim Q₁₀ mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang bekerja menghambat peroksidase lipid dan protein serta potensial membersihkan radikal bebas, dan berperan sentral dalam fosforilasi oksidatif mitokondria. Akan tetapi Koenzim Q₁₀ tidak stabil karena sangat mudah teroksidasi, sehingga Koenzim Q₁₀ tidak dapat memberikan efek yang diinginkan (Yamada Shao, Butt *et al.*, 2015).

Antioksidan endogen non enzimatis yang lain adalah Glutathion (GSH) yang bersifat hidrofilik. Glutathion (GSH) merupakan suatu tripeptida yang memiliki banyak peran biologis termasuk perlindungan terhadap *reactive oxygen species* (ROS), *reactive nitrogen species* (RNS) dan detoksifikasi racun endogen dan eksogen dari yang bersifat elektrofilik (Lushchak, 2012). Glutathion juga bermanfaat membantu fungsi Koenzim Q₁₀, alpha lipoic acid, Vitamin C, dan Vitamin E. (Sidharth Sonthalia, D. Daulatabad, R. Sarkar, 2016).

Liposom adalah sebuah teknologi yang paling banyak diterapkan untuk enkapsulasi, pengiriman bahan aktif, serta senyawa lain dalam penelitian biologi, farmasi, kesehatan, gizi dan kosmetik. Liposom berupa vesikula lipid lapis ganda yang mengandung fosfolipid dan kolesterol yang mengelilingi sebuah kompartemen berair (Swarbrick, 2007). Karakteristik fisika sediaan liposom terdiri dari organoleptis, ukuran partikel, pH, persen penjerapan obat dan berat jenis. Keseluruhan karakterisasi tersebut berpengaruh terhadap sediaan liposom yang memiliki banyak kelebihan yaitu dapat menghantarkan obat secara tertarget, meningkatkan efikasi dan indeks terapi, meningkatkan stabilitas obat dengan sistem enkapsulasi, tidak toksik, biokompatibel, dan lain lain (Akbarzadeh dkk., 2013). Penerapan teknologi liposom untuk sediaan topikal telah terbukti efektif dalam penghantaran obat ke dalam kulit (Venkateswarlu, J. Reddy Ramesh, V. Reddy *et al.*, 2011).

Fosfolipid yang sering digunakan dalam pembuatan liposom adalah *lecithin*. *Soy lecithin* mengandung asam lemak tidak jenuh yang memiliki kompatibilitas tinggi di dalam tubuh dan penetrasi yang baik, sehingga penggunaannya dalam pembuatan liposom sangat luas dan banyak (Kang *et al.* 2005). Dilihat dari karakteristik dari Koenzim Q₁₀ dan Glutathion maka dibuat sediaan liposom dengan fosfolipid *soy lecithin* diharapkan tetap stabil hingga saat akan digunakan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Huibin Li, *et al.*, (2015) dengan judul "Preparation and Quality Evaluation of Coenzyme Q₁₀ Long-Circulating Liposomes" menunjukkan bahwa formulasi dan metode preparasi liposom dengan Koenzim Q₁₀ memiliki efisiensi penetrasi yang efektif dan cepat

dengan stabilitas yang baik. Selain itu studi yang dilakukan Hoppe, *et al.*, (1999) menunjukkan bahwa aplikasi topikal dari Koenzim Q₁₀ memberikan manfaat yang efektif untuk mencegah penuaan pada kulit .

Sedangkan penelitian tentang Glutathion yang dilakukan oleh Victor Paramov, Sudha Kumari, Marianne Brannon *et al.*, (2011) telah terbukti bahwa Glutathion dengan enkapsulasi liposom memiliki sistem penghantaran yang sangat unggul apabila diaplikasikan pada kulit, dimana Glutathion merupakan antioksidan hidrofilik.

Dalam penelitian ini, akan dilakukan perbandingan karakteristik antara liposom tanpa Koenzim Q₁₀ dan Glutathion dibandingkan dengan liposom kombinasi bahan aktif Koenzim Q₁₀ dan Glutathion dengan formulasi antioksidan Koenzim Q₁₀ dan Glutathion dalam sistem liposom fosfolipid lesitin kedelai.

METODE PENELITIAN

Bahan : Fosfolipid Lesitin Kedelai (Brataco), Koenzim Q₁₀ (*Ubiquinone*) (*Cosmetic Grade*), Glutathion (GSH) (*Cosmetic Grade*), Kolesterol / Super sterol ester (Croda), Kloroform (*Mallinckrodt Chemicals*), Etanol p.a, Aquadem (Brataco). Alat: Timbangan Analitik (OHAUS), Ultra-Turrax (IKA T25), Alat-alat gelas (beaker glass berbagai ukuran, pengaduk kaca, pipet tetes, gelas ukur, objek glass, dan kaca arloji), Cawan porselen, Kertas perkamen, pH Meter (*SI analytic Lab 850*), *Laboratory biofuge (heraeus)*, *Partikel size analyzer (Microtrac Particle Size Analyzer)*, Spektrofotometer UV (*Shimadzu UV-1800*).

Dilakukan pembuatan liposom dengan 2 formula menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Formula pertama merupakan formula basis liposom sedangkan formula kedua liposom dengan bahan Koenzim Q₁₀ dan Glutathion. Pada formula I basis menggunakan fosfolipid lesitin kedelai 1,350 gram, dan kolesterol 300 mg, kloroform 5 ml, aquadem 50 ml. Sedangkan formula II liposom dengan bahan aktif dilakukan penambahan Koenzim Q₁₀ 0,15 gram dan Glutathion 1,033 gram.

Cara Pembuatan sediaan liposom koenzim Q₁₀ dan Glutathion dilakukan dengan cara ditimbang Fosfolipid lesitin pada kaca arloji I, ditimbang kolestrol pada kaca arloji II, ditimbang Koenzim Q₁₀ pada kertas perkamen, ditimbang

Glutathion menggunakan kertas perkamen. Fosfolipid lesitin, koenzim Q10, dan kolesterol yang telah ditimbang dilarutkan dalam kloroform, lalu setelah fosfolipid lesitin dan kolesterol larut dalam kloroform, kloroform diuapkan pada suhu 40°C di lemari asam. Setelah kloroform hilang, masukkan glutathion yang sudah dilarutkan aquadem pada campuran lesitin dan kolesterol tersebut. Kemudian dihidrasi dengan sisa aquadem ad 50 ml. Setelah ditambah aquadem, larutan tersebut dirotasi menggunakan *magnetic stirrer* pada 100 rpm. Setelah itu, larutan tersebut dihomogenkan lagi menggunakan *ultraturrax* pada 3500 rpm. Lalu terbentuklah liposom dengan bahan aktif koenzim Q10 dan Glutathion. Setelah itu dilakukan beberapa evaluasi organoleptis pH, ukuran partikel, dan persen penjerapan bahan aktif.

Evaluasi organoleptis meliputi bentuk, warna, bau dilakukan pada liposom formula I dan formula II. Evaluasi organoleptis pada liposom diamati secara visual menggunakan panca indera langsung.

Evaluasi pH sediaan liposom dilakukan menggunakan alat pH meter, diawali dengna melakukan kalibrasi dengan pH standard yang tersedia yaitu pH 4,00 dan 7,00 kemudian pH sediaan diperiksa.

Evaluasi ukuran partikel pada liposom formula I dan formula II menggunakan alat *Microtrac Particle Size Analyzer* dengan prinsip pengukuran dengan menggunakan spektroskopi foton. Langkah pertama yang dilakukan pipet 1,0 ml sediaan liposom kemudian di homogenkan, selanjutnya dimasukkan ke dalam alat untuk memulai pengukuran dan nantinya akan diperoleh data rata-ratadiameter droplet.

Penentuan evaluasi penjerapan bahan aktif bertujuan untuk mengetahui apakah formula sediaan liposom yang telah dibuat efektif dapat menyerap bahan aktif sesuai yang diharapkan. Evaluasi persen penjerapan bahan aktif dilakukan pada formula II dengan menggunakan spektrofotometer UV (Shimadzu UV-1800). Langkah pertama yang dilakukan pembuatan baku induk koenzim Q10 selanjutnya dilakukan pembuatan baku kerja sehingga didapatkan data linearitas.

Langkah selanjutnya diambil 1 mL liposom disentrifugasi pada 3500 rpm selama 30 menit, kemudian supernatant dan presipitat akan terpisah. Presipitat

diambil menggunakan syringe kemudian diletakkan pada vial dan dilarutkan ethanol 96%. Selanjutnya larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang 275 nm. Persen penyerapan dapat dihitung dengan membandingkan konsentrasi bahan aktif pada presipitat dengan konsentrasi bahan aktif yang ditambah di awal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tampilan organoleptis liposom hasil semua perlakuan dapat dilihat pada Gambar.1. Secara organoleptis, formula I dan formula II sama-sama berbau khas lesitin dan berbentuk cair, akan tetapi formula I berbeda warna dengan formula II. Formula I berwarna putih susu, sedangkan formula II berwarna putih susu kekuningan. Hal yang dapat mempengaruhi perbedaan warna dari kedua formula tersebut adalah bahan aktif dari formula II, yang mana mengandung koenzim Q10 yang memiliki organoleptis berwarna *orange*.



Gambar 1. Hasil Basis Liposom dan Liposom mengandung KoenzimQ₁₀ dan Glutathion (1. Basis Liposom 2. Liposom mengandung bahan aktif Koenzim Q₁₀ dan Glutathion)

Hasil pengukuran pH pada basis liposom dan liposom KoenzimQ₁₀ dapat dilihat pada Tabel 1. Kemudian dianalisis dengan menggunakan Metode *Paired Samples T test* dengan $\alpha = 0,05$. Didapatkan nilai $p = 0,005$ dimana jika $p > 0,05$ menunjukkan bahwa perbedaan pH dari kedua formula tidak berbeda bermakna. Dan dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Hasil Pengukuran pH Liposom

Formula	pH			Rata-rata ± SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Formula I	5,95	6,05	6,10	6,03 ± 0,076
Formula II	5,97	5,99	6,05	6,00 ± 0,041

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 pH 1 & pH 2	60,333	3	0,07637	0,03582

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair pH 1 & pH 2	3	0,107	0,687

Paired Samples Test

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair pH 1 & pH 2	601833	0,05741	0,04001	0,16671	0,04113	-3,000	2	0,085	

Gambar 2. Hasil analisis data Metode Paired Samples T test

Evaluasi pH menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara formula I dan formula II. Karena pada formula I dan formula II tidak menggunakan bahan yang memiliki pH yang terlalu jauh satu sama lain. pH pada setiap sediaan berada di kisaran 6, yang mirip dengan pH yang dimiliki kulit.

Hasil ukuran partikel dapat dilihat pada Tabel 3. Didapatkan ukuran partikel pada formula I 2683 nm dan ukuran formula II 1328 nm. Dengan demikian menunjukkan bahwa liposom formula I yang merupakan basis memiliki ukuran partikel lebih besar daripada formula II liposom dengan bahan aktif. Baik formula I dan formula II memiliki ukuran partikel yang terlalu besar dan tidak sesuai spesifikasi dapat disebabkan karena pengaruh pengadukan dan pencampuran

bahan pada saat pembuatan liposom. Untuk mengecilkan ukuran partikel maka dalam pembuatan liposom dilakukan sonikasi selama 30 menit.

Tabel 3. Hasil Evaluasi Distribusi Ukuran Partikel Liposom

Formula	Disribusi Ukuran Partikel (µm)
Formula I	2,683
Formula II	1,328

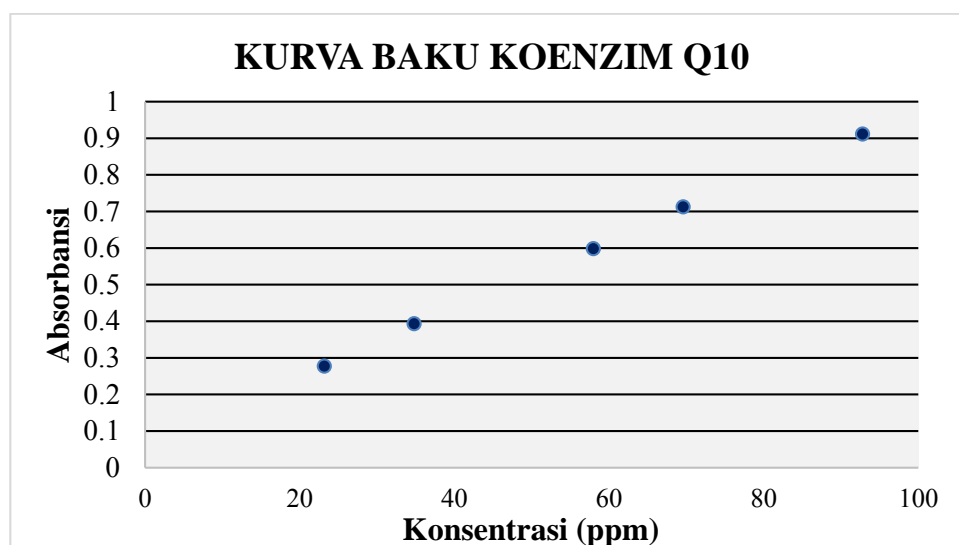
Hasil dari pembuatan baku induk didapatkan kadar 23,2 ppm dimana sebelumnya dilakukan penimbangan koenzim Q₁₀ sebanyak 11,6 mg. Kemudian dilarutkan dalam etanol p.a 96% 50mL.

Hasil dari baku kerja dapat dilihat pada tabel 4. Dimana diperoleh data konsentrasi baku kerja koenzim Q₁₀.

Tabel 4. Baku kerja Koenzim Q₁₀ dalam etanol p.a 96%

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
23,2	0,277
34,8	0,393
58	0,598
69,6	0,712
92,8	0,911

Hasil penentuan linearitas didapatkan regresi absorbansi terhadap baku kerja natrium sakarin yang linier ($r^2 = 0,9997$). Dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Regresi Absorbansi Koenzim Q₁₀ Terhadap Kadar Baku Kerja Koenzim Q₁₀.

Evaluasi persen penyerapan bahan aktif koenzim Q10 pada sediaan liposom formula II pada replikasi I, II, dan III antara lain 30,99%, 27,79%, dan 37,57%. Dapat dilihat pada Tabel 4. Persen penyerapan bahan aktif replikasi III memiliki persen penyerapan bahan aktif koenzim Q10 paling besar, sebaliknya pada replikasi II persen penyerapan bahan aktif terkecil.

Tabel 4. Hasil Penentuan Persen Penyerapan Bahan Aktif

Formula	% Penyerapan Koenzim Q ₁₀			Rata-rata ± SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Formula II	30,99%	27,79%	37,57%	32,12% ± 4,987

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ditinjau dari parameter-parameter yang ada, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh terhadap karakter fisik antara formula basis liposom dengan liposom yang mengandung bahan aktif dan tidak ada pengaruh terhadap pH antara formula basis liposom dengan liposom berbahan aktif dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Presentase persen penyerapan bahan aktif hasil formula II replikasi I, II, II berturut-turut adalah 30,99%; 27,79%; 37,57% dengan hasil perhitungan rata-rata persen penyerapan bahan aktif Koenzim Q₁₀ pada formula II sebesar 32,12%.

SARAN

Sebagai penutup jurnal ini, penulis menyampaikan sejumlah saran sekiranya dapat berguna untuk diperhatikan dalam penelitian selanjutnya. Untuk dapat menghasilkan liposom yang stabil dengan efisiensi penyerapan bahan aktif yang besar perlu meningkatkan jumlah kolesterol dalam formulasi liposom. Perlu dilakukan sonikasi agar menghasilkan liposom dengan distribusi ukuran partikel lebih homogen dan dilakukan validasi terhadap kurva baku Koenzim Q₁₀.

DAFTAR PUSTAKA

Barel, OA. 2009, *Handbook of Cosmetic Science and Technology 3rd edition*, Informa Healthcare USA, Inc, 291-301.

- Dua, J.S., Rana, A.C., Bhandari, A.K., 2012, Liposome : Methods of Preparation and Applications. *Int J Pharm*, 3, 14–20.
- DwiastutiRini, Sri Noegrohati, et al, 2016, Metode Pemanasan dan Sonikasi Menghasilkan Nano liposom dari Fosfolipid Lesistin Kedelai, Universitas Gajah Mada.
- Gokce, H Evren, EmrahKorkmaz, et al, 2012, A Comparative Evaluation of Coenzyme Q10-loaded Liposome and Solid Lipid nanoparticles as dermal antioxidant carriers, *Int J Nanomedicine*, September 2012
- Helfrich YR, Sachs DL, Voorhees JJ, 2008, Overview of Skin Aging and Photoaging. *DermatolNurs*. Jun;30(3).
- I, Masamitsu *et al.*, 2009. Photoaging of the skin.(online), (<http://www.anti-aging.gr.jp> diakses tanggal 4 Maret 2017)
- Ichihashi, PM. Photoaging of the skin. *JpnSoc Anti-Aging Med*. 2009;6(6):46–59.
- Jusuf, Nelva K, 2005, Kulit Menua. *RS H. Majalah Kedokteran Nusantara*. Jun;38(2).
- Sayuti, Kesuma, RinaYenrina, 2015, *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Andalas University Press, I Padang, 32-39.
- Sharma B, Sharma A. Future Prospect of Nanotechnology in Development of Anti-Aging Formulations. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012 May 11;4(3).
- Shivare UD, D.U Ambulkar, et al, 2009, Formulation and Evaluation of Pentoxifylline Liposome Formulation. *Digest Journal of Nanomaterials*. 4 (4): 857-862
- Sidharth Sonthalia, Deepashree Daulatabad, Rashmi Sarkar, 2016, Glutathione as skin whitening agent: facts, myths, evidence and controversies. *82 (3): 262-273*.
- KOHJIN Co.,Ltd, 2008, L-Glutathione GRAS Notification. Chou-ko, Tokyo, JAPAN:8
- Wenas, Muliana Desy, Mahdi Jufri, Berna elya, 2015, Formulation and Penetration Study Liposom Xanthone of mangosteen Pericarp Methanol Extract (*Garcinia mangostana* L.), *International Journal of Sci*, Vol. 5 No.12.
- Castile, J.D., dan K.M.G. Taylor. (1999). Factors Affecting The Size Distribution of Liposomes Produced By Freeze-Thaw Extrusion. *Int. J. Pharm.*, 188, 87-95.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Swarbrick, J. (2007). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* New York: Informa Healthcare USA.
- Gregoriadis, G., A.T. Florence dan H. M. Patel. (1993). *Liposomes in Drug Delivery*. Switzerland: Harwood Academic.