

Formulasi dan Uji Penetrasi *In Vitro* Sediaan Gel Transfersom Mengandung Kofein sebagai Antiselulit

(Formulation and *In Vitro* Penetration Evaluation of Transfersome Gel Preparation Contains Caffeine as an Anticellulite)

RINI SUGIYATI^{1,2}, ISKANDARSYAH¹, JOSHITA DJAJADISASTRA¹

¹Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

²Direktorat Bina Produksi dan Distribusi Kefarmasian, Ditjen Binfar dan Alkes, Kemenkes RI, Jakarta, Indonesia.

Diterima 1 Maret 2015, Disetujui 26 Juli 2015

Abstrak: Transfersom merupakan vesikel nano yang bersifat deformabel sehingga mampu berpenetrasi sampai ke lapisan kulit yang lebih dalam. Kofein memiliki khasiat sebagai antiselulit. Penelitian ini bertujuan untuk formulasi dan mengetahui kemampuan daya penetrasi gel transfersom kofein dibandingkan dengan gel kofein tanpa transfersom. Empat formula transfersom dibuat dengan konsentrasi kofein yang berbeda (1; 2; 3; 5%) menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Suspensi formula 4 dengan ukuran partikel 202,35 nm, indeks polidispersitas 0,1090 dan efisiensi jerapan 58,91% dipilih untuk sediaan gel. Uji penetrasi dilakukan secara *in vitro* dengan sel difusi Franz. Hasil yang diperoleh adalah jumlah kumulatif kofein yang terpenetrasi dari gel transfersom lebih tinggi yaitu 1218,34+358,71 $\mu\text{g cm}^{-2}$, persentase jumlah kumulatif 8,53+2,55% dan fluks 360,91+86,50 $\mu\text{g cm}^{-2}\text{jam}^{-1}$. Sementara gel kofein tanpa transfersom memiliki jumlah kumulatif terpenetrasi 369,29+231,57 $\mu\text{g cm}^{-2}$, persentase jumlah kumulatif 2,61+1,37% dan fluks 70,96+73,39 $\mu\text{g cm}^{-2}\text{jam}^{-1}$. Dapat disimpulkan bahwa gel transfersom kofein menghasilkan daya penetrasi yang lebih baik dibandingkan gel kofein tanpa transfersom.

Kata kunci: Kofein, gel, transfersom, penetrasi, sel difusi Franz, antiselulit.

Abstract: Transfersome is a nano-vesicle which is deformable so it can penetrate to the deeper layer of skin. Caffeine is common used as an anticellulite. The aim of this study is to formulate and investigate *in vitro* penetration of caffeine from transfersome gel compared to nontransfersome gel. Four transfersome formulations with different caffeine concentrations (1; 2; 3; 5%) were made using thin layer hydration method. The fourth formulation was chosen to be loaded into gel (vesicle size of 202.35 nm ; polydispersity index of 0.1090 ; entrapment efficiency of 58.91%). The *in vitro* penetration evaluation was determined using Franz diffusion cell. The cumulative amount of caffeine penetrated from transfersome gel is 1218.34+358.71 $\mu\text{g cm}^{-2}$, cumulative amount percentage is 8.53+2.55% and flux is 360.91+86.50 $\mu\text{g cm}^{-2}\text{hr}^{-1}$. Those results gave higher value than that of nontransfersome gel (cumulative amount of 369.29+231.57 $\mu\text{g cm}^{-2}$; cumulative amount of 2.61+1.37% ; flux 70.96+73.39 $\mu\text{g cm}^{-2}\text{hr}^{-1}$). Accordingly, caffeine transfersome gel has better penetration than caffeine nontransfersome gel.

Keywords: Caffeine, gel, transfersome, penetration, Franz diffusion cell, anticellulite.

* Penulis korespondensi, Hp. 081311522419
e-mail: rini.sugiyati@gmail.com

PENDAHULUAN

PENGEMBANGAN bentuk teknologi penghantaran obat terus-menerus dilakukan untuk semakin dapat menghantarkan obat ke dalam tubuh dan meningkatkan efikasi dan keamanan obat. Transfersom yang juga dikenal dengan nama lain *deformable vesicle* atau *elastic liposom*, merupakan suatu bentuk teknologi nano vesikel yang unik dan menarik. Transfersom mempunyai kemampuan berubah bentuk, elastis dan fleksibel. Berbeda dengan liposom, transfersom menggunakan fosfatidilkolin dan surfaktan sebagai dua komponen utama pembentuk vesikelnya. Perbedaan bahan pembentuk vesikel ini menyebabkan perbedaan sifat deformabilitas transfersom dan liposom, yang berkaitan dengan mekanisme penetrasi vesikel keduanya. Kandungan surfaktan meningkatkan elastisitasnya sehingga memungkinkan transfersom berubah bentuk saat melewati celah antar sel kulit dan mampu memberikan perbaikan penetrasi obat sampai ke lapisan yang lebih dalam hingga sistemik. Daya penetrasi transfersom lebih efektif masuk ke dalam kulit dibandingkan dengan liposom konvensional atau salep⁽¹⁾. Terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa penetrasi zat aktif capsaicin yang dimasukkan ke dalam transfersom memberikan kumulatif penetrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan krim⁽²⁾.

Kofein merupakan zat aktif yang umum digunakan sebagai antiselulit. Kofein harus dapat berpenetrasi ke dalam kulit dan mencapai jaringan adiposa subkutan sebagai sarannya serta meningkatkan efeknya sebagai antiselulit. Saat ini, kofein sebagai antiselulit yang diformulasikan ke dalam transfersom dalam upaya meningkatkan daya penetrasinya belum diteliti. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan formulasi transfersom kofein menggunakan fosfatidilkolin dari kedelai dengan tween 80 sebagai surfaktan yang kemudian dimasukkan ke dalam bentuk sediaan gel. Selanjutnya, dilakukan uji *in vitro* dalam upaya mengetahui kemampuan daya penetrasi gel transfersom kofein dan membandingkannya dengan sediaan gel kofein tanpa transfersom.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Kofein (Sigma-Aldrich, Switzerland), *soy phosphatidylcholine* Phospholipon® 90G (*free gift* dari Lipoid GmbH, Jerman), tween 80 (Kao Corporation, Singapura), diklormetan (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Merck, Jerman), kalium dihidrogenfosfat (Merck, Jerman), aquademineralisata (Brataco, Indonesia), gas nitrogen, carbopol 940 (didistribusi oleh Brataco, Indonesia), propilen glikol (Dow Chemical Co., USA), metil paraben (Ueno Fine

Chemical, Jepang), TEA, etanol *p.a.* (Merck, Jerman), tikus betina galur *Sprague Dawley* usia 8-10 minggu dengan berat + 200 gram (IPB).

Alat. Rotavapor (Hahn Shin HS-2005S-N, Jepang), vakum evaporator (OSK 6513, Jepang), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800, Jepang), pH-meter (Eutech Instrument pH 510, Singapura), *homogenizer* (Multimix, Malaysia), viskometer Brookfield (Brookfield HAT, USA), ultrasentrifugator (Thermo Electron Corporation Sorvall WX Ultra Series WX Ultra 90, Inggris), *Scanning Electron Microscope* (FEI-INSPECT F50), *Transmission Electron Microscope* (JEOL JEM 1400), PSA (VASCO NanoQ), sel difusi Franz, membran polikarbonat (Sigma Aldrich, Switzerland), *mini extruder set* (Avanti Polar Lipid).

METODE. Formulasi Transfersom Kofein. Keempat formula transfersom dibuat menggunakan modifikasi metode hidrasi lapis tipis^(3,4) dengan variasi konsentrasi kofein (1; 2; 3; 5 %). Kofein, fosfatidilkolin dan tween 80 dilarutkan dalam 80 mL diklormetan di *beaker glass* dan dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C dengan kecepatan 50-150 *rpm* dengan kondisi vakum. Lapisan film tipis yang terbentuk pada labu bulat kemudian dialiri gas nitrogen selama 2 menit dan didiamkan selama 24 jam dengan mulut labu tertutup. Tahapan selanjutnya, film tipis dihidrasi dengan 50 mL dapar fosfat pH 7,4 dalam kondisi tidak vakum pada suhu 80 °C, rotasi kecepatan 200 *rpm* selama 30 menit dengan bantuan *glass beads*. Hasil suspensi tersebut dipindahkan dari *rotary evaporator* kemudian didiamkan hingga dingin. Setelah dingin didiamkan selama 24 jam pada suhu 4 °C. Kemudian dilakukan sonikasi selama 30 menit dan diekstrusi menggunakan membran polikarbonat 400 nm.

Karakterisasi Fisik Transfersom Kofein. Morfologi Vesikel. Karakterisasi morfologi vesikel transfersom dilakukan dengan menggunakan metode *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Pada SEM, suspensi dikeringkan terlebih dahulu di atas *carbon tape* dalam desikator dan diamati menggunakan SEM. Untuk pengujian TEM dilakukan dengan cara sampel ditetaskan pada *carbon coated grid* sebanyak satu tetes lalu dibiarkan selama 2 menit pada suhu ruang untuk absorpsi dalam film karbon, setelah kering dianalisis dengan TEM.

Distribusi Ukuran Partikel Transfersom. Penetapan distribusi ukuran partikel sebelum dan setelah ekstrusi dilakukan dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) pada suhu 25 °C.

Pengukuran Elastisitas (Deformabilitas Relatif). Elastisitas transfersom diukur sebagai fungsi

waktu. 2 mL suspensi transfersom diekstrusi dengan menggunakan membran polikarbonat 400 nm. Waktu yang dibutuhkan suspensi transfersom untuk melewati membran dicatat.

Uji Efisiensi Penjerapan. Analisis efisiensi penjerapan dilakukan dengan pemurnian (ultrasentrifugasi) suspensi transfersom kofein selama 4 jam pada kecepatan 30000 rpm dan suhu 4 °C dalam keadaan vakum. Konsentrasi total suspensi transfersom sebelum disentrifugasi dan larutan supernatan yang diperoleh setelah sentrifugasi diukur dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada λ_{\max} 273 nm. Persentase penjerapan bahan uji di dalam transfersom dihitung dengan rumus⁽⁵⁾: Penjerapan bahan uji (%) = {(konsentrasi total – konsentrasi supernatan) / konsentrasi total} x 100.

Formulasi Sediaan Gel. Carbopol didispersikan dalam *aquademineralsata* sambil dihomogenisasi pada kecepatan 800 rpm hingga carbopol larut dan larutan berwarna bening jernih. TEA lalu ditambahkan ke dalam campuran yang kemudian dihomogenisasi hingga terbentuk basis gel. Kemudian dimasukkan metil paraben yang telah dilarutkan dalam propilen glikol ke dalam basis gel. Zat aktif kofein yang telah dilarutkan dalam *aquademineralsata* panas atau suspensi transfersom ditambahkan ke dalam basis gel (1% carbopol) yang telah terbentuk. Kemudian gel dihomogenisasi pada kecepatan 2000 rpm (gel kofein tanpa transfersom) atau 500 rpm (gel transfersom kofein).

Evaluasi Fisik Sediaan Gel. Pengamatan Organoleptis, Homogenitas dan pH. Pengamatan organoleptis terhadap warna, bau, homogenitas dan pengukuran pH dari sediaan gel yang dihasilkan.

Penentuan Viskositas dan Sifat Alir⁽⁶⁾. Pengukuran viskositas dilakukan dengan viskometer Brookfield dengan kecepatan mulai 0,5; 2; 5; 10; dan 20 rpm, lalu balik 20; 10; 5; 2 dan 0,5 rpm. Data yang diperoleh diplotkan terhadap tekanan geser (dyne/cm²) dan kecepatan geser (/sec). Pemeriksaan viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

Uji Kestabilan⁽⁷⁾. Uji kestabilan sediaan gel meliputi warna, bau, homogenitas, pH dan sineresis, dievaluasi pada suhu rendah (4±2 °C), suhu kamar (27±2 °C) dan suhu tinggi (40±2 °C) dalam waktu 12 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali, serta dilakukan *cycling test* sebanyak 6 siklus.

Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Transfersom dalam Gel. Pengukuran distribusi ukuran vesikel transfersom formula optimal dalam sediaan gel dilakukan menggunakan PSA.

Uji Penetrasi In Vitro Menggunakan Sel Difusi Franz. Uji penetrasi sediaan gel dilakukan dengan

kulit abdomen tikus menggunakan sel difusi Franz (luas area difusi 1,77 cm², volume kompartemen 13,0 mL, larutan dapar fosfat pH 7,4 pada kompartemen reseptor dan suhu 37±0,5 °C). Tikus yang dikorbkan telah mendapatkan surat keterangan lolos kaji etik (*ethical approval*) dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo. Kulit abdomen tikus yang telah dicukur bulunya diletakkan di antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor dengan posisi stratum korneum menghadap ke atas. Gel transfersom kofein dan gel kofein tanpa transfersom ditimbang masing-masing 1 g, selanjutnya diaplikasikan pada permukaan kulit di kompartemen donor. Sebanyak 0,5 mL sampel diambil secara periodik selama 8 jam dari kompartemen reseptor menggunakan *syringe* dan digantikan dengan sejumlah yang sama larutan dapar fosfat pH 7,4. Sampel lalu diencerkan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 dalam labu ukur 10 mL dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis (λ_{\max} = 273 nm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

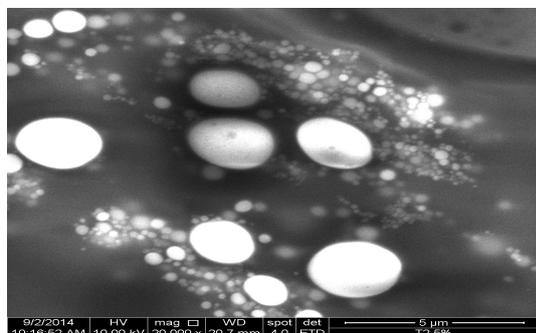
Formulasi Transfersom Kofein. Metode pembuatan yang digunakan adalah hidrasi lapis tipis, karena merupakan metode yang paling umum dalam pembuatan transfersom karena prosesnya mudah dilakukan. Selain itu, metode hidrasi lapis tipis lebih sederhana dan tidak memakan waktu lama⁽⁴⁾. Perbandingan konsentrasi fosfatidilkolin sebagai bahan utama pembentuk vesikel dan tween 80 yang dapat meningkatkan sifat deformabilitas transfersom dalam setiap formula adalah 85:15 berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa dengan perbandingan tersebut, transfersom memiliki deformabilitas dan efisiensi penjerapan yang baik⁽⁴⁾.

Kecepatan rotavapor yang digunakan dalam pembuatan lapis tipis dinaikkan secara bertahap mulai dari 50 sampai 150 rpm agar lapis tipis yang terbentuk lebih merata di seluruh permukaan labu evaporator. Suhu pembuatan lapis tipis adalah 40 °C. Suhu ini merupakan titik uap diklormetan, sehingga diklormetan yang digunakan sebagai pelarut dapat menguap pada suhu tersebut. Lapis tipis yang terbentuk pada labu selanjutnya dialiri gas N₂ yang merupakan gas *inert* selama kurang lebih 2 menit untuk mencegah terjadinya oksidasi lipid. Penyeragaman ukuran vesikel suspensi transfersom yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan sonikator dalam waktu yang tidak terlalu lama (30 menit) supaya tidak terjadi agregasi partikel suspensi transfersom. Berikutnya dilakukan ekstrusi untuk mengecilkan ukuran vesikel dengan menggunakan

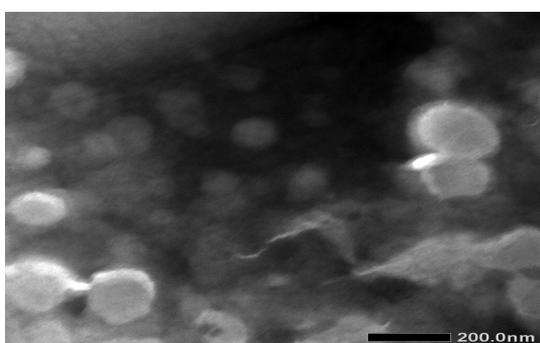
membran polikarbonat 400 nm.

Karakterisasi Fisik Transfersom Kofein.

Morfologi Vesikel. Hasil pencitraan analisa SEM dan TEM (Gambar 1) memperlihatkan morfologi transfersom berupa vesikel sferis dan tidak *rigid*.



(a)



(b)

Gambar 1. Morfologi transfersom formula 4 (mengandung kofein 5%): (a) Hasil SEM, dan (b) TEM pada perbesaran 20.000 kali.

Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel.

Ukuran vesikel yang kecil sangat penting untuk penghantaran topikal, oleh karena itu perlu diketahui nilai ukuran rata-rata dan distribusi ukuran partikel⁽⁸⁾. Ukuran partikel dapat dilihat sebagai diameter suatu partikel bulat ekuivalen yang memiliki sifat yang sama dengan partikel yang diamati^(9,10). Data ukuran D_{mean} volume vesikel keempat formula (1, 2, 3 dan 4) setelah proses ekstrusi secara berturut-turut memberikan nilai 1687,17; 126,35; 728,02 dan 202,35 nm (Tabel 1). Nilai D_{mean} volume yang didapat menunjukkan rata-rata diameter volume dan digunakan untuk membandingkan ukuran vesikel keempat formula karena dapat merefleksikan ukuran dari partikel-partikel dalam *bulk* volume sampel.

Parameter lain yang diperoleh dari pengujian menggunakan PSA adalah nilai PDI (*Polydispersity Index*) yang menggambarkan nilai homogenitas vesikel. Sediaan yang dinyatakan homogen memiliki nilai PDI hingga 0,6. PDI formula 1, 2, 3 dan 4 setelah ekstrusi berturut-turut adalah 1,1180; 0,1720; 0,7800

Tabel 1. Data ukuran vesikel transfersom pada keempat formula.

Formula transfersom	Konsentrasi kofein (%)	D_{mean} volume (nm)	PDI	Efisiensi penjerapan (%)
1	1	1687,17	1,1180	62,28
2	2	126,35	0,1720	43,77
3	3	728,02	0,7800	51,52
4	5	202,35	0,1090	58,91

dan 0,1090. Hal ini menunjukkan bahwa suspensi formula 4 paling homogen sementara formula 3 paling heterogen. Formula 4 memiliki suspensi transfersom yang paling homogen karena dalam proses ekstrusi yang dilakukan terjadi proses *breaking* dan *fusion* yang pada akhirnya dapat menyeragamkan ukuran dan distribusi vesikel yang terbentuk sehingga homogen.

Pengukuran Elastisitas (Deformabilitas Relatif). Salah satu cara untuk mengetahui deformabilitas transfersom adalah melalui pengamatan kemampuan elastisitasnya, yaitu kemampuannya untuk melalui suatu membran dan diukur waktu yang diperlukan untuk melewati membran tersebut. Elastisitas transfersom dapat diukur sebagai fungsi waktu⁽⁴⁾. Waktu rata-rata formula 1, 2, 3 dan 4 yang menunjukkan waktu yang dibutuhkan sejumlah 2 mL suspensi transfersom untuk melalui membran polikarbonat 400 nm mengalami peningkatan berturut-turut adalah 156,33+17,39; 175,67+11,24; 175,67+17,39 dan 197,00+24,30 detik.

Efisiensi Penjerapan Transfersom. Nilai efisiensi penjerapan formula 1, 2, 3 dan 4 berturut-turut adalah 62,28; 43,77; 51,52; dan 58,91%. Pengujian efisiensi penjerapan yang dilakukan adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi zat aktif terhadap penjerapannya dalam vesikel. Nilai efisiensi penjerapan yang diperoleh menggambarkan bahwasemakin besar konsentrasi kofein maka nilai efisiensi penjerapannya menunjukkan tren peningkatan. Hal ini disebabkan dalam proses pembuatan transfersom mencakup penggabungan dan pemecahan, sehingga semakin banyak konsentrasi kofein maka semakin banyak kemungkinan zat aktif yang terjerap dalam vesikel.

Formulasi Sediaan Gel. Transfersom yang diformulasikan ke dalam sediaan gel adalah formula 4, yang merupakan formula optimal berdasarkan hasil karakterisasi morfologi vesikel (sferis dan tidak *rigid*), ukuran D_{mean} volume vesikelnya kecil (202,35 nm), nilai homogenitas paling baik (0,1090) serta efisiensi penjerapannya tinggi (58,91%). Suspensi transfersom yang dimasukkan ke dalam gel setara dengan 2,5% kofein dalam gel tanpa transfersom.

Evaluasi Fisik Sediaan Gel. Pengamatan

Organoleptis, Homogenitas dan pH. Gel kofein tanpa transfersom memiliki warna transparan, tidak berbau, homogen dan pH 5,96. Gel transfersom kofein berwarna putih gading (FG Medium, berdasarkan kode pewarnaan *Color Guide*), berbau khas dikarenakan mengandung fosfatidilkolin, homogen dan pH 5,65. Kedua sediaan tidak terjadi sineresis, diketahui dengan tidak adanya air yang terdapat pada lapisan atas gel yang terbentuk.

Penentuan Viskositas dan Sifat Alir. Viskositas gel transfersom kofein pada *spindel 6* dengan kecepatan 20 rpm adalah $4,75 \times 10^4$ cps, sedangkan gel kofein tanpa transfersom $6,8 \times 10^4$ cps. Ini menunjukkan viskositas gel transfersom lebih rendah dibandingkan gel tanpa transfersom, kemungkinan dikarenakan terdapatnya kandungan surfaktan dalam suspensi transfersom yang dimasukkan ke dalam sediaan gel.

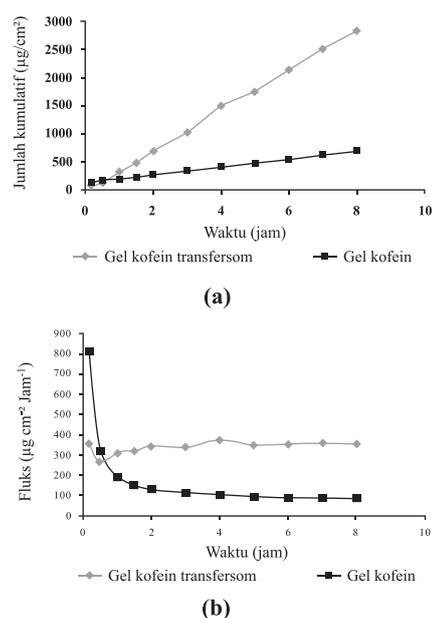
Uji Stabilitas. Gel transfersom kofein menunjukkan stabilitas fisik yang lebih baik dengan parameter perubahan warna dan homogenitas pada penyimpanan suhu dingin dan suhu kamar dibandingkan gel kofein tanpa transfersom. Pada suhu dingin dan suhu kamar, gel kofein tanpa transfersom mengalami perubahan warna dari transparan menjadi putih, serta menjadi tidak homogen. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya benang-benang atau jarum-jarum kristal kofein akibat kelarutannya yang sudah terlampaui sehingga terjadi rekristalisasi. Secara keseluruhan, tidak terjadi perubahan bau dan sineresis, sementara perubahan pH pada kedua sediaan cenderung meningkat.

Cycling test dilakukan pada sediaan dengan suhu penyimpanan yang berbeda dalam interval waktu tertentu. Hal ini ditujukan untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya terjadi pada kondisi normal, sehingga sediaan akan mengalami *stress* yang bervariasi. Pengamatan organoleptis dan sineresis serta kristalisasi zat aktif dilakukan untuk melihat ketidakstabilan zat aktif dalam sediaan. Berdasarkan hasil pengamatan *cycling test*, gel transfersom kofein tidak mengalami perubahan warna, berbau khas fosfatidilkolin serta tidak terjadi sineresis. Sementara itu, untuk gel kofein tanpa transfersom, gel menjadi putih setelah penyimpanan pertama karena ketidakstabilan zat aktif pada suhu rendah, tetapi kembali menjadi transparan sampai akhir siklus, tidak terjadi sineresis dan tidak berbau.

Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Transfersom dalam Gel. Ukuran D_{mean} volume vesikel transfersom formula 4 yang dimasukkan ke dalam gel adalah 330,39 nm. Nilai ini lebih besar dibandingkan suspensi transfersomnya (202,35 nm). Hal ini dapat disebabkan selama proses pembuatan dan penyimpanan gel, vesikel transfersom mengalami agregasi sehingga ukurannya menjadi lebih besar.

Uji Penetrasi *In Vitro* Menggunakan Sel Difusi Franz. Uji penetrasi secara *in vitro* dilakukan menggunakan membran sebagai model kulit. Membran ini dapat berupa membran biologis dari hewan atau membran artifisial seperti selofan⁽⁵⁾. Tujuan dilakukannya uji penetrasi adalah untuk mengetahui perbandingan jumlah kofein yang terpenetrasi dari gel transfersom dan gel tanpa transfersom melalui kulit selama interval waktu tertentu. Alasan digunakannya kulit tikus sebagai membran adalah karena lebih mudah didapat serta memiliki permeabilitas yang mirip dengan manusia, walaupun tetap lebih besar dibandingkan manusia. Koefisien permeabilitas kulit tikus yang dicukur bulunya sebesar 103,08 cm/jam x 10^5 , sedangkan kulit manusia 92,27 cm/jam x 10^5 ⁽¹¹⁾. Larutan yang digunakan sebagai cairan pada kompartemen reseptor adalah dapar fosfat pH 7,4 yang menyerupai cairan biologis tubuh manusia. Kondisi suhu selama penelitian dipertahankan pada suhu $37 \pm 0,5$ °C menggunakan *water jacket*. Suhu ini mirip dengan suhu tubuh normal manusia. Suhu harus dijaga konstan karena perubahan suhu juga akan mempengaruhi penetrasi zat aktif dari sediaan.

Pengujian dilakukan selama 8 jam dan *sampling* dilakukan pada 11 titik, yaitu pada menit ke-10; 30; 60; 90; 120; 180; 240; 300; 360; 420 dan 480. Uji penetrasi perkutan secara *in vitro* memiliki dua parameter utama yaitu jumlah kumulatif zat aktif yang terpenetrasi atau persentase dosis terpenetrasi dan laju penetrasi atau fluks⁽⁴⁾. Jumlah kumulatif kofein yang terpenetrasi dan fluksnya selama 8 jam ditunjukkan Gambar 2. Kedua grafik menggambarkan profil jumlah kumulatif kofein terpenetrasi dari sediaan gel transfersom lebih tinggi.



Gambar 2. (a) Jumlah kumulatif zat aktif yang terpenetrasi dan (b) Fluks gel transfersom kofein dan gel kofein tanpa transfersom.

Hasil uji penetrasi yang diperoleh yaitu gel transfersom kofein memberikan nilai jumlah kumulatif kofein yang terpenetrasi $1218,34+358,71 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, persentase jumlah kumulatif $8,53+2,55\%$ dan fluksnya $360,91+86,50 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ lebih tinggi dibanding gel tanpa transfersom (jumlah kumulatif $369,29+231,57 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, persentase jumlah kumulatif $2,61+1,37\%$, fluks $70,96+73,39 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$).

Data uji penetrasi memperlihatkan sediaan gel transfersom kofein memberikan kemampuan penetrasi yang lebih besar daripada gel tanpa transfersom. Ini terkait dengan sifat deformabilitas vesikel transfersom kofein sehingga memberikan kemampuan penetrasi yang lebih baik berdasarkan mekanisme penetrasinya. Vesikel bertindak sebagai pembawa obat. Vesikel utuh masuk ke dalam *stratum corneum* karena pengaruh sifat alami gradien hidrasi transkutan. Selain itu, vesikel juga bertindak sebagai peningkat penetrasi dimana *bilayer* vesikel masuk ke dalam *stratum corneum* dan memodifikasi lamela lipid interseluler^(4,12). Komponen fosfolipid vesikel juga memiliki pengaruh pada kenaikan permeabilitas transfersom karena mempunyai afinitas yang tinggi terhadap membran biologi.

SIMPULAN

Gel transfersom kofein memiliki kemampuan penetrasi lebih besar yang ditunjukkan dari nilai jumlah kumulatif kofein terpenetrasi ($1218,34+358,71 \mu\text{g cm}^{-2}$), persentase jumlah kumulatif ($8,53+2,55\%$) dan fluks ($360,91+86,50 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) lebih tinggi dibandingkan gel kofein tanpa transfersom (jumlah kumulatif terpenetrasi $369,29+231,57 \mu\text{g cm}^{-2}$, persentase jumlah kumulatif $2,61+1,37\%$ dan fluks $70,96+73,39 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti sangat berterima kasih kepada Lipoid GmbH, Jerman yang dengan kebaikannya telah membantu sumbangan (*free gift*) penyediaan *soy phosphatidylcholine Phospholipon® 90G*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cevc G. Transfersomes: Innovative transdermal drug carriers. In: Ratbone MJ, Hadgraft J, Roberts MS, editors. Modified release drug delivery technology. New York: Marcel Dekker; 2003. 533-45.
2. Xiao YL, Luo JB, Yan ZH. Preparation and *in vitro* and *in vivo* evaluation of topically applied capsaicin transfersomes. *Zhangguo Zhong Yao Za Zhi*. 2006. 31:981-4.
3. Vyas LK, Tapar KK, Nema RK, Parashar AK. Development and characterization of topical liposomal gel formulation for anti-cellulite activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013; 5(3):512-6.
4. El Zaafarany GM, Awad GAS, Holayel SM, Mortada ND. Role of edge activators and surface charge in developing ultradeformable vesicles with enhanced skin delivery. *Journal of Pharmaceutics*. 2010. 397: 164-72.
5. Chen Y, Wu Q, Zhang Z, Yuan L, Liu X, Zhou L. Preparation of curcumin-loaded liposomes and evaluation of their skin permeation and pharmacodynamics. *Molecules*. 2012. 17:5972-87.
6. Widyanati P. Formulasi dan uji penetrasi gel liposom xanton hasil fraksinasi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) [thesis]. Depok: Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. 2013.
7. WHO Technical Report Series. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical product. 2009.
8. Celia C, Cilurzo F, Trapasso E, Cosco D, Fresta M, Paolino D. Ethosomes and transfersomes containing linoleic acid: physicochemical and technological features of topical drug delivery carriers for the potential treatment of melasma disorders. *Biomed Microdevices*. 2012. 14:119-30.
9. A basic guide to particle characterization. UK: Malvern Instruments Worldwide. 2012.
10. A guidebook to particle size analysis. USA: Horiba Scientific. 2012.
11. Wester RC, Maibach HI. *In vitro* testing of topical pharmaceutical formulation. In: Osborne DW, Amann AH, editors. Topical drug delivery system. New York: Marcel Dekker. 1990.
12. Elsayed MMA, Abdallah OY, Naggar VF, Khalaffah NM. Deformable liposomes and ethosomes: Mechanism of enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006. 322:60-6.