

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui formula etosom ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) yang optimum sebagai sistem penghantaran obat untuk terapi jerawat berdasarkan hasil uji stabilitas fisiknya. Pemilihan ekstrak daun jeruk purut sebagai zat aktif didasarkan pada penelitian Srisukhdik. (2011), yang menunjukkan bahwa daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) memiliki kandungan senyawa kimia seperti *flavonoid*, *limonene*, sitronelal, *terpinene-4-ol* dan *α -terpineol* yang bersifat sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai terapi jerawat (*acne vulgaris*) yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Metode yang dapat dilakukan untuk memperoleh zat aktif yang terkandung di dalam daun jeruk purut adalah dengan melakukan ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi karena sebagian besar kandungan zat aktif yang terdapat dalam daun jeruk purut merupakan zat yang mudah menguap sehingga tidak tahan terhadap pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Pemilihan pelarut didasarkan pada sifat zat aktif yang akan diekstrak. Etanol bersifat semipolar sehingga dapat menarik zat-zat aktif yang bersifat polar seperti *flavonoid* dan non polar seperti *limonene*, sitronelal, *terpinene-4-ol* dan *α -terpineol*.

Hasil pengujian panapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk purut positif mengandung flavonoid, fenol dan terpenoid. Senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri terdapat pada daun jeruk purut yaitu *limonene*, sitronelal, *terpinene-4-ol* dan *α -terpineol*. Menurut penelitian yang

dilakukan Srisukh, dkk. (2011), konsentrasi hambat minimum ekstrak daun jeruk purut yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat adalah 1,1 mg/ml, penentuan dosis tersebut berdasarkan metode *disc-diffusion* dan *broth microdilution*.

Etosom mengandung fosfolipid, alkohol seperti etanol dan isopropil alkohol, dengan konsentrasi tinggi dan air. Kombinasi fosfolipid dan konsentrasi etanol yang tinggi memiliki efek sinergis dalam formulasi vesikular untuk dapat masuk ke dalam lapisan kulit yang lebih dalam dan penetrasi ke dalam lapisan *lipid bilayer* kulit (Dave, dkk, 2012). Menurut David, dkk. (2013), mekanisme penetrasi etosom ke dalam lapisan kulit terjadi karena adanya efek etanol yang menyebabkan ketidakstabilan lipid dengan mengurangi kepadatan *multilayer* lipid dari membran sel. Dalam formulasi etosom penentuan ukuran partikel merupakan faktor yang sangat penting dalam penetrasi obat ke dalam kulit sehingga perlu dilakukan formulasi untuk mengetahui formula yang optimum agar dapat mencapai target terapi yaitu pada folikel pilosebaceus. Menurut Martinho, dkk. (2011), ukuran partikel yang dapat masuk ke dalam folikel pilosebaceus adalah 3 - 10 μm .

Fosfatidilkolin dan etanol memiliki peranan penting dalam pembuatan etosom. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Gunjan dan Swarnlata (2014), ukuran diameter vesikel etosom akan menurun dengan peningkatan konsentrasi etanol yang digunakan dan konsentrasi lesitin yang tinggi akan meningkatkan ukuran diameter vesikel etosom. Dalam pembuatan etosom, fosfatidilkolin berfungsi sebagai pembentuk komponen vesikel, konsentrasi fosfatidilkolin yang dapat digunakan dalam pembuatan etosom adalah 1 - 4% (Gunjan dan Swarnlata, 2014). Menurut penelitian yang dilakukan Akib, dkk., (2014), jika

konsentrasi lesitin yang digunakan dalam pembuatan etosom terlalu rendah maka jumlah vesikel yang terbentuk sedikit dan jika penggunaannya dengan konsentrasi tinggi akan menyebabkan vesikel menjadi lunak dan dapat terjadi kebocoran pada vesikel. Konsentrasi fosfatidilkolin yang digunakan pada penelitian ini adalah 1 - 3 %, pemilihan konsentrasi tersebut bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi lesitin terhadap ukuran diameter vesikel etosom. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, hasil karakterisasi ukuran diameter vesikel etosom dari ketiga formula telah memenuhi spesifikasi yang diharapkan dan ukuran diameter vesikel yang paling kecil terdapat pada formula etosom dengan konsentrasi fosfatidilkolin sebesar 2%. Menurut Akib, dkk., (2014), formula etosom yang mengandung fosfatidilkolin sebesar 2% memiliki ukuran diameter paling kecil dibandingkan dengan fosfatidilkolin dengan konsentrasi sebesar 1% dan 3% karena pada konsentrasi tersebut, konsentrasi fosfolipid mencapai konsentrasi optimum sehingga penambahan konsentrasi maupun pengurangan konsentrasi akan mempengaruhi ukuran diameter vesikelnya.

Etanol berfungsi untuk membentuk membran vesikel yang halus, sebagai pelarut lesitin dan *penetration enhancer*, rentang konsentrasi etanol yang digunakan yaitu 30 – 50 %. Pada penelitian ini jumlah etanol yang digunakan adalah 40% (v/v), karena pada konsentrasi tersebut etanol dapat membantu proses difusi obat ke dalam kulit menjadi lebih optimal (Gunjan dan Swarnlata, 2014).

Hasil uji stabilitas pH etosom pada suhu 4°C berdasarkan uji *Repeated ANOVA* menunjukkan bahwa ketiga formula etosom tidak stabil karena nilai pH semua formula berbeda secara signifikan ($p < 0,05$), tetapi jika dibandingkan

dengan spesifikasi yang telah ditetapkan maka nilai pH ketiga formula masih dalam rentang spesifikasi yang diharapkan yaitu sesuai dengan pH fisiologis kulit dengan rentang 4,5 - 7,0. Hasil uji stabilitas ukuran diameter vesikel etosom pada suhu 4°C berdasarkan uji *Repeated ANOVA* menunjukkan bahwa formula etosom yang tetap stabil selama 30 hari adalah formula E3, dimana ukuran diameter vesikelnya tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$) dan ukuran diameter vesikelnya masih memenuhi spesifikasi, sedangkan ukuran diameter vesikel etosom formula E1 dan E2 tidak stabil, karena mengalami peningkatan ukuran diameter vesikel pada hari ke-15 dan ke-30. Ketidakstabilan ukuran diameter vesikel etosom pada suhu 4°C disebabkan karena berdasarkan pengamatan yang dilakukan jika ekstrak daun jeruk purut disimpan pada suhu $< 10^{\circ}\text{C}$ akan mengalami kristalisasi sehingga menyebabkan ukuran partikel yang terdeteksi oleh alat PSA menjadi besar. Selain itu, menurut Rowe, dkk. (2009), lesitin akan memisah jika disimpan dibawah 10°C .

Hasil uji stabilitas nilai pH dan ukuran diameter vesikel etosom pada suhu 25°C berdasarkan uji *Repeated ANOVA* menunjukkan bahwa, formula etosom yang tetap stabil selama 30 hari adalah E2 dan E3 sedangkan formula yang tidak stabil adalah E1. Ketidakstabilan formula E1 disebabkan karena jumlah lesitin yang digunakan terlalu sedikit yaitu sebesar 1 %, sehingga jumlah vesikel etosom yang terbentuk menjadi sedikit. Jumlah vesikel etosom yang sedikit dapat menyebabkan jumlah zat aktif yang tidak terjerap menjadi lebih banyak sehingga dapat mengalami agregasi. Berdasarkan analisis data bahwa formula etosom yang paling optimum adalah formula E2 yang disimpan pada suhu 25°C karena ukuran diameter vesikelnya paling kecil yaitu sebesar $4,58 \pm 0,69 \mu\text{m}$, nilai pH masih dalam rentang spesifikasi, dengan nilai pH sebesar $6,63 \pm 0,15$,

dan tetap stabil selama 30 hari, selain itu penyimpanan pada suhu 25°C lebih mudah dilakukan jika dibandingkan dengan suhu 4°C. Komposisi formula E2 yaitu dengan perbandingan bahan ekstrak daun jeruk purut : lesitin : etanol teknis 85% sebesar 0,11 : 2 : 64. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa hipotesis penelitian ini diterima karena lesitin dengan konsentrasi 2% menghasilkan formula etosom yang paling optimum dengan ukuran diameter vesikel etosom yang paling kecil.

Berdasarkan hasil pengujian dengan TEM, morfologi vesikel etosom yang terbentuk adalah berbentuk *spheris* dengan rentang ukuran 50 – 500 nm. Hasil tersebut sudah sesuai dengan spesifikasi yang diharapkan. Keterbatasan dari penelitian ini adalah minimnya karakteristik etosom yang diperiksa untuk menentukan formula yang optimum sehingga perlu adanya pengujian karakteristik yang lain seperti uji efisiensi penjerapan, zeta potensial, uji permeasi ke dalam kulit, dan pengukuran indeks polidispersitas, yang dapat menunjang hasil penelitian. Pengujian zeta potensial (ZP) bertujuan untuk mengetahui nilai potensial elektrokinetik pada sistem kolid seperti suspensi etosom. Nilai ZP menunjukkan perbedaan potensial antara media dispersi dan lapisan stasioner cairan yang melekat pada partikel terdispersi. Nilai ZP etosom ekstrak daun jeruk purut yang diharapkan pada penelitian ini adalah sebesar -43 mV, karena pada nilai tersebut memiliki *uptake celuler* yang paling tinggi dibandingkan dengan formulasi lain yang memiliki nilai ZP yang lebih besar dan/atau lebih kecil dari nilai tersebut (Honary dan Zahir, 2013).