

Pengaruh Perbandingan Lesitin dan Ekstrak Tebu (*Saccharum officinarum*) Terhadap Ukuran Partikel Fitosom

Mustaqim Prayogi, Akbar Rozaq Mugni, Mufidatul Ilmi, Hamidah, Dahlia Permatasari
Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Abstrak

*Diabetes Mellitus (DM) disebabkan ketidakmampuan tubuh memproduksi atau tidak efektifnya penggunaan hormon insulin sehingga terjadi peningkatan kadar gula darah. Sebagian besar komplikasi akibat penyakit DM tipe 2 terjadi pada organ vital yang dapat berakibat pada kematian. Pencegahan komplikasi dilakukan dengan melakukan pengobatan secara rutin seumur hidup karena DM merupakan penyakit yang tidak dapat sembuh permanen sehingga banyak pasien yang jenuh dan tidak patuh dalam menjalankan terapinya. Salah satu rute terapi yang dapat meningkatkan kepatuhan pasien adalah rute transdermal. Tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) mengandung sakarin yang memiliki potensi sebagai obat antidiabetes. Salah satu pendekatan untuk meningkatkan penetrasi obat herbal melalui rute transdermal dapat dilakukan dengan fitosom. Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan formula fitosom ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*) untuk terapi antidiabetes. Ekstraksi tebu (*Saccharum officinarum*) pada penelitian dilakukan dengan metode maserasi digesti menggunakan pelarut etanol 50%. Formulasi fitosom dilakukan dengan variasi jumlah lesitin kedelai yang digunakan dan dibuat dengan metode dispersi mekanik dan sonikasi. Fitosom dievaluasi organoleptis, ukuran partikel, nilai distribusi ukuran partikel dan morfologinya. Rendemen ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*) yang diperoleh adalah 26,1194% dan positif mengandung sakarin. Variasi konsentrasi lesitin kedelai pada fitosom ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*) memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap ukuran partikel fitosom yang terbentuk. Formula terbaik dalam penelitian ini adalah fitosom dengan 437,5 mg lesitin kedelai dan 1 gram ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*) yang memiliki ukuran partikel sebesar $14,3967 \pm 2,2701 \mu\text{m}$, nilai distribusi ukuran partikel $2,0387 \pm 0,1952$, berbentuk sferis dan tidak teragregasi antar satu sama lain.*

Kata kunci: diabetes mellitus, *Saccharum officinarum*, fitosom.

Abstract

*Diabetes Mellitus (DM) is caused by inability of the body to produces or ineffective uses of insulin resulting in increases of blood glucose concentration. Most of complications caused by DM type 2 occur in vital organs and may caused death. Complications prevention are done by life time therapy routinely because DM is a disease which cannot be cured permanently so there are a lot of patients that feel bored and decrease patients compliance. One of transdermal route benefits is increase patients compliance. Sugar cane (*Saccharum officinarum*) contains saccharin that has potency to be antidiabetic drug. One of skin penetration enhancement approach for herbal drug through transdermal route can be done by phytosome. This research was conducted to develop sugar cane (*Saccharum officinarum*) extract phytosome formulation for antidiabetic therapy. Sugar cane (*Saccharum officinarum*) extraction was done by digestion maceration method using ethanol 50%. Phytosome formulation was done by variation of amount soy lechitin used and formulated by mechanical dispersion and sonication method. Evaluation was done for its organoleptic, particle size, particle size distribution value and morphology. Recovery percentage of sugar cane (*Saccharum officinarum*) extract was 26,1194% and contained saccharin positively. Variation of formulation did not affect phytosome particle size significantly. The best formula in this research was phytosome contained 437,5 mg soy lechitin and 1 gram sugar cane (*Saccharum officinarum*) extract. Its particle size was $14,3967 \pm 2,2701 \mu\text{m}$, particle size distribution value was $2,0387 \pm 0,1952$ and the shape was spheric and did not aggregate each other.*

Keywords: diabetes mellitus, *Saccharum officinarum*, fitosom.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) tipe 2 adalah penyakit metabolik dengan ciri terjadinya hiperglikemia karena terjadi resistensi insulin yaitu turunnya kemampuan insulin dalam merangsang pengambilan glukosa oleh jaringan perifer dan menghambat produksi glukosa oleh hati. Sebagian besar komplikasi kronik akibat penyakit DM tipe 2 terjadi pada organ vital yang dapat berakibat pada kematian.¹ Resiko kematian penderita DM lebih besar 4-5 kali dibandingkan dengan non DM dengan penyebab kematian 50% akibat penyakit jantung koroner dan 30% akibat gagal ginjal.² Pencegahan komplikasi dilakukan dengan melakukan pengobatan secara rutin seumur hidup karena DM merupakan penyakit yang tidak dapat disembuhkan secara permanen sehingga banyak pasien yang jenuh dan tidak patuh dalam menjalankan terapinya.³

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) dikenal sebagai tanaman penghasil gula.⁴ Salah satu kandungan tanaman tebu adalah sakarin.^{5,6} Senyawa sakarin terbukti dapat menyebabkan efek hipoglikemik.⁷ Salah satu rute terapi yang dapat meningkatkan kepatuhan pasien terhadap terapinya adalah rute transdermal. Salah satu syarat obat dapat diformulasikan menjadi sediaan rute transdermal adalah harus memiliki afinitas pada fase hidrofolik dan hidrofobik, partisi yang besar hanya pada salah satu fase akan menyebabkan obat tidak dapat menembus kulit.⁸ Sakarin merupakan senyawa pemanis yang bersifat sangat polar.⁹ Fitosom merupakan suatu metode baru yang dikembangkan untuk meningkatkan penetrasi obat herbal di kulit.¹⁰

Karakterisasi formula fitosom antara lain bentuk, ukuran, distribusi ukuran partikel, persentase penyerapan, persentase pelepasan dan komposisi kimia.¹⁰ Spesifikasi hasil untuk untuk kulit hasil rekayasa jaringan memiliki pori-pori antara 20-400 μm .¹¹ Sehingga ukuran partikel fitosom sangat berperan penting terhadap penetrasi obat rute transdermal. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengembangkan formulasi fitosom ekstrak tebu yang memiliki potensi untuk mengontrol gula darah dan meningkatkan kepatuhan terapi pasien DM tipe 2.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbandingan konsentrasi lesitin dan ekstrak

tebu (*Saccharum officinarum*) terhadap ukuran partikel fitosom ekstrak tebu.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true eksperimental design*). Variabel dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 kategori, yaitu:

- Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbandingan konsentrasi lesitin kedelai dan ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*).
- Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah ukuran partikel fitosom ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*).

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 7 bulan di Laboratorium Simplisia dan Laboratorium Ekstraksi Balai Materia Medika Batu untuk ekstraksi akar dan daun tebu serta uji kandungan sakarin dalam ekstrak tebu. Laboratorium Farmasetika Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembuatan fitosom. Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya untuk menganalisa ukuran partikel fitosom. Laboratorium Kimia Universitas Gajah Mada untuk menganalisa morfologi fitosom.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan digital Mettler Toledo, *rotary evaporator* IKA RV 10 Basic, *magnetic stirrer* Arc Velp Scientific, sonikator Sonica, PSA (*Particle Size Analyzer*) Cilas 1090 Liquid *Transmission Electron Microscopy* (TEM) JEOL JEM 1400 dan peralatan gelas. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah lesitin kedelai (Fisher Scientific), aseton (PT Insoclay), etanol 96% (PT Smartlab), akuades (Hydrobatt) daun, batang bawah dan akar tebu (Perkebunan Tebu Desa Pringgodani, Sidoarjo).

Ekstraksi Tebu

Simplisia daun, batang bawah dan akar dimaserasi digesti menggunakan etanol 50% dengan pengadukan konstan kecepatan 50 rpm dan suhu 40°C selama 24 jam yang diulangi sebanyak tiga kali. Kemudian dilakukan pemisahan ekstrak dari pelarutnya

menggunakan *rotary evaporator* selama 4 jam dan *water bath* selama 2 jam.

Uji Kandungan Sakarin

Diambil sebagian ekstrak sejumlah 100 mL dan diasamkan dengan HCl 8 N. Kemudian sampel diekstrak sebanyak 1 kali dengan 25 mL eter. Setelah terjadi pemisahan larutan, eter diuapkan di udara terbuka. Lalu ditambahkan H₂SO₄ 36 N 10 tetes dan 40 mg resorsinol. Setelah itu dilakukan pemanasan perlahan dengan api kecil hingga terjadi perubahan warna menjadi warna hijau kotor. Campuran didinginkan serta ditambahkan 10 mL aquades dan larutan NaOH 10% secara berlebih.¹²

Pembuatan Fitosom

Fosfatidilkolin ditimbang sesuai dengan komposisi formula yang telah ditentukan dan didispersikan dalam aseton 12,5 mL dalam wadah tertutup. Ekstrak dimasukkan ke fase lipid dan dihomogenkan dengan pengaduk magnetik pada kecepatan 750 rpm selama 15 menit dan membentuk sistem koloidal. Ukuran fitosom diperkecil dengan sonikasi selama 15 menit.¹³

Tabel 1. Formula Pembuatan Fitosom

Formula	Fosfatidilkolin	Ekstrak Tebu
A	375 mg	1 gram
B	437,5 mg	1 gram
C	500 mg	1 gram
D	562,5 mg	1 gram

Uji Organoleptis

Uji organoleptik dilakukan dengan mencium bau dan melihat warna serta konsistensi fitosom secara langsung untuk mengetahui karakteristik organoleptis fitosom.¹⁴

Analisa Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel Fitosom

Karakterisasi ukuran dan distribusi ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan *particle size analyzer* (PSA).¹³ Diameter ukuran partikel fitosom ditunjukkan oleh nilai D_{90%}. Nilai distribusi ukuran partikel dihitung dengan rumus sebagai berikut.¹⁵

$$\text{Nilai distribusi} = \frac{D_{90\%} - D_{10\%}}{D_{50\%}}$$

Analisa Morfologi Fitosom

Morfologi partikel fitosom diamati menggunakan *Transmission Electron Microscope* (TEM).¹⁶

Analisis Data

Analisa data hasil pengukuran rata-rata ukuran partikel yaitu D_{90%} diolah dengan menggunakan program SPSS 20 dengan tingkat signifikansi 0,05 (p = 0,05) dan taraf kepercayaan 95%.

HASIL PENELITIAN

Ekstraksi Tebu

Ekstrak tebu yang dihasilkan berwarna coklat tua dan berbau khas aromatik tebu dengan persentase rendemen yaitu 26,1194%. Ekstrak tebu yang didapatkan positif mengandung sakarin. Hasil ekstrak terdapat pada gambar 1.



Gambar 1. Ekstrak Tebu (*Saccharum officinarum*)

Evaluasi Fitosom Tebu

Hasil uji organoleptis yang dilakukan pada fitosom ekstrak tebu adalah berbau khas tebu, berwarna coklat dan berbentuk cair. Hasil formulasi fitosom terdapat pada gambar 2. Data hasil uji pengukuran partikel dapat dilihat pada tabel 2, sedangkan hasil perhitungan nilai distribusi ukuran partikel dapat dilihat pada tabel 3. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data memiliki distribusi yang normal, namun hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi secara homogen sehingga perlu dilakukan transformasi data sebelum diuji *one way Anova*. Dilakukan transformasi log₁₀ pada data sehingga didapatkan data yang terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji *one way Anova* menghasilkan nilai p=0,000, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada pengukuran rata-rata diameter fitosom.

Hasil uji *post-hoc Tukey's Multiple Range Test* menunjukkan bahwa jika ukuran partikel fitosom formula B dan C dibandingkan maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Pada formula A dan D jika dibandingkan

juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Namun jika formula B dan C dibandingkan dengan formula A dan D terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil perhitungan nilai distribusi ukuran partikel fitosom menunjukkan bahwa nilai distribusi ukuran partikel fitosom dari yang paling kecil ke besar adalah formula B, C, D dan A secara berurutan.



Gambar 2. Hasil formulasi fitosom ekstrak Tebu

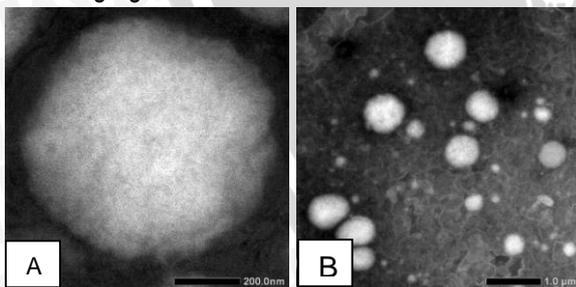
Tabel 2. Ukuran Partikel Fitosom

Ukuran partikel \pm SD (μm)			
Formula A	Formula B	Formula C	Formula D
86,5100 \pm 5,4888	14,3967 \pm 2,2701	18,2433 \pm 1,6519	90,1067 \pm 10,0191

Tabel 3. Nilai Distribusi Ukuran Partikel Fitosom

Nilai distribusi ukuran partikel			
Formula A	Formula B	Formula C	Formula D
8,7389 \pm 0,9184	2,0387 \pm 0,1952	2,2301 \pm 0,3665	8,2646 \pm 1,8265

Fitosom yang diuji morfologinya adalah fitosom formula B karena memiliki ukuran dan nilai distribusi ukuran partikel paling kecil. Hasil uji morfologi fitosom dapat dilihat pada gambar 3. Hasil uji TEM menunjukkan bahwa fitosom yang telah dibuat berbentuk sferis serta tidak teragregasi antar satu sama lain.



Gambar 3. Morfologi Fitosom

Keterangan: (A) perbesaran 30.000 kali (B) perbesaran 5.000 kali

PEMBAHASAN

Persentase rendemen ekstrak yang didapatkan adalah 26,1194%. Nilai ini didapatkan dari perbandingan ekstrak yang didapatkan dengan massa awal dari bahan yang digunakan. Faktor-faktor yang mempengaruhi besarnya persentase rendemen antara lain metode

ekstraksi, pelarut dan bagian tanaman yang digunakan.¹⁷⁻¹⁹

Ukuran partikel fitosom dapat bervariasi dari 50 nm hingga beberapa ribu mikrometer.²⁰ Peningkatan konsentrasi lesitin kedelai dapat meningkatkan ukuran vesikel dari fitosom. Hal tersebut disebabkan karena peningkatan jumlah lipid akan meningkatkan jumlah vesikel yang terbentuk, sehingga menyebabkan interaksi antar partikel yang tidak diharapkan seperti tabrakan antar partikel atau interaksi elektrostatis antar partikel. Interaksi tersebut akan menginduksi terjadinya aglomerasi dan meningkatnya ukuran partikel vesikel.²¹ Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan semakin besar konsentrasi lesitin tidak dihasilkan fitosom dengan ukuran partikel yang semakin besar. Hal tersebut dapat disebabkan karena reaksi antara zat aktif dengan lesitin kedelai.

Fitosom terbentuk dari reaksi stoikiometri sejumlah fosfolipid dengan ekstrak.²⁰ Jumlah molekul zat aktif dan fosfolipid mempengaruhi ukuran vesikel fitosom sebagai akibat terbentuknya ikatan kompleks pada saat pembentukan fitosom.²² Hal tersebut didukung oleh penelitian lainnya yang menunjukkan bahwa peningkatan rasio molar fosfolipid terhadap zat aktif menghasilkan ukuran partikel fitosom yang bervariasi.²³

Hasil perhitungan nilai distribusi ukuran partikel fitosom menunjukkan bahwa fitosom B memiliki nilai distribusi ukuran partikel paling kecil. Nilai distribusi ukuran partikel digunakan untuk mengukur besar distribusi ukuran partikel. Semakin kecil nilai distribusi ukuran partikel maka semakin homogen distribusi ukuran partikel yang dihasilkan.²⁴ Distribusi ukuran partikel yang homogen adalah faktor yang mendasari terbentuknya sistem dispersi yang stabil secara fisik.²⁵ Faktor yang dapat menyebabkan tidak stabilnya sistem dispersi antara lain potensial zeta, proses pengadukan dan sonikasi.

Salah satu faktor yang mempengaruhi stabilitas fisik sistem dispersi fitosom adalah nilai potensial zeta yang merupakan muatan yang ada di permukaan partikel pada sistem dispersi. Nilai potensial zeta dapat mempengaruhi terjadinya agregasi vesikel fitosom yang dapat menyebabkan penggabungan antar vesikel sehingga distribusi ukuran vesikel menjadi heterogen.²⁵ Semakin tinggi nilai potensial zeta maka semakin besar gaya tolak menolak antar partikel dan semakin baik stabilitas fisiknya. Sistem dispersi dengan nilai lebih dari

± 30 mV akan stabil secara fisik, jika lebih dari ± 60 mV maka stabilitasnya sangat baik. Namun pada sistem dispersi dengan nilai kurang dari ± 20 mV stabilitas fisiknya rendah, jika kurang dari ± 5 mV maka akan terjadi agregasi.²⁶ Lesitin kedelai memiliki nilai potensial zeta negatif pada pH 7, namun pada pH asam dapat terjadi peningkatan nilai potensial zeta yang menyebabkan ketidakstabilan sistem dispersi.²⁷

Proses pembuatan fitosom yang mempengaruhi kestabilan fisik sediaan fitosom antara lain kecepatan dan lama pengadukan serta suhu dan lama sonikasi.²⁸ Proses pengadukan yang terlalu cepat atau terlalu lama dapat menyebabkan turbulensi dan agregasi sehingga ukuran partikel terdispersi menjadi lebih besar dan terdistribusi secara heterogen, sedangkan jika proses pengadukan dilakukan terlalu pelan atau terlalu singkat dapat menyebabkan ukuran partikel terdispersi menjadi heterogen karena kurang maksimalnya proses pengecilan ukuran partikel serta bahan-bahan yang digunakan tidak dapat tercampur secara homogen.²⁹ Peningkatan suhu menyebabkan meningkatnya mobilitas vesikel, sehingga dapat terjadi agregasi yang menyebabkan ukuran vesikel menjadi lebih besar dan terdistribusi secara heterogen.³⁰ Hal tersebut dapat disebabkan karena peningkatan suhu dapat meningkatkan kecepatan gerak Brown sehingga menghasilkan tumbukan antar partikel yang kuat.³¹ Proses sonikasi yang tidak optimal dapat menyebabkan agregasi vesikel sehingga distribusi ukuran vesikel fitosom menjadi heterogen karena adanya vesikel yang berukuran besar dan kecil.³²

Ukuran partikel fitosom merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi bioavailabilitas senyawa fitokimia yang terjerap dalam fitosom. Ukuran partikel yang kecil memiliki luas permukaan yang besar sehingga menyebabkan pelepasan yang lebih baik.²⁴ Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan ukuran partikel dan nilai distribusi ukuran partikel fitosom paling kecil didapatkan dari formula B. Namun uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan ukuran partikel fitosom jika formula B dibandingkan dengan formula C. Sehingga dipilih formula B sebagai formula terbaik dengan mempertimbangkan jumlah lesitin yang digunakan untuk membuat fitosom.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi

lesitin kedelai pada fitosom ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*) memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap ukuran partikel fitosom yang terbentuk. Komposisi formula optimum mengandung 437,5 mg lesitin kedelai dan 1 gram ekstrak tebu (*Saccharum officinarum*) dan memiliki ukuran partikel sebesar $14,3967 \pm 2,2701$ μm , nilai distribusi ukuran partikel $2,0387 \pm 0,1952$, berbentuk sferis dan tidak teragregasi antar satu sama lain.

SARAN

Dari hasil penelitian ini, disarankan dilakukan uji parameter evaluasi fitosom lainnya untuk melengkapi data uji ukuran partikel seperti efisiensi penyerapan zat aktif, uji stabilitas, pengukuran pH, pengukuran potensial zeta dan indeks polidispersitas. Selain itu, juga perlu dilakukan uji penetrasi bahan aktif secara in vitro dan uji efektivitas fitosom ekstrak tebu dalam mengontrol kadar gula darah secara in vivo.

UCAPAN TERIMAKASIH

Dahlia Permatasari, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing penelitian; Akbar Rozaaq Mugni, Hamidah dan Mufidatul Ilmi selaku Tim PKM-PE PIMNAS XXIX; serta Kemenristek DIKTI selaku penyelenggara Program Kreativitas Mahasiswa.

REFERENSI

1. Ndraha, Suzanna, Diabetes Melitus Tipe 2 Dan Tatalaksana Terkini, *Medicinus*, 2014, 27(2): 9-16.
2. Meydani, P.L.D., 2011, Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Upaya Pencegahan Komplikasi DM oleh Pasien DM di Poliklinik Khusus Penyakit Dalam RSUP Dr M. Djamil Padang, *Skripsi*. Tidak Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang.
3. Hapsari, P.N., 2014, Hubungan Antara Kepatuhan Penggunaan Obat dan Keberhasilan Terapi pada Pasien Diabetes Mellitus Instalasi Rawat Jalan di RS X Surakarta, *Skripsi*. Tidak Diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
4. Singh, A., Lal, U.R., Mukhtar, H.M., Singh, P.S., Shah, G., Dhawan, R.K., Phytochemical Profile of Sugarcane and Its Potential Health Aspects, *Pharmacognosy Reviews*, 2015, 9(17): 45-54.

5. Semwal, D.K., Bamola, A., Rawat, U., Chemical Constituents of Some Antidiabetic Plants, *Journal of Phyto-chemistry and Ayurvedic Heights*, 2007, (2): 40-48.
6. Saravanamuttu, S. and Sudarsanam, D., Antidiabetic Plants and Their Active Ingredients: A Review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2012, 3(10): 3639-3650.
7. Thompson, M.M. and Mayer, J., Hypoglycemic Effect of Saccharin in Experimental Animals, *American Journal of Clinical Nutrition*, 1959, (7): 80-85.
8. Prabhakar, D., Sreekanth, J., Jayaveera, K.N., Transdermal Drug Delivery Patches: A Review, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 2013, 3(4): 213-221.
9. Tepper, Elmar, 2011, *Fast Analyses of Additives in Soft Drinks by Minimal Sample Preparation*, Knauer, Berlin.
10. Jain, N., Gupta, B.M., Thakur, N., Jain, R., Banweer, J., Jain, D.K., et al, Phytosome: A Novel Drug Delivery System for Herbal Medicine, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2010, 2(4): 224-228.
11. Tran, R.T., Naseri, E., Kolasnikov, A., Bai, X., Yang, J., A New Generation of Sodium Chloride Porogen for Tissue Engineering, *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2011, DOI: 10.1002/bab.44.
12. Anonim, 1994. SNI 01-2893-1994 *Cara Uji Pemanis Buatan*. Standar Nasional Indonesia.
13. Tahir, K.A., 2014, Uji In-Vitro Krim Antioksidan Fitosom Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) dengan Pengaruh Propilen Glikol Sebagai Peningkat Penetrasi, **Tesis**. Tidak diterbitkan, Program Studi Farmasi Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
14. Cardoso, A., Lemos, L., Frighetto, M., Nunes, E., Total phenolics extracted from the skin of fuji apple and incorporated by liposome in galenic bases: an alternative to use by-products of food industry, *Romanian Biotechnological Letters*, 2011, 16(6): 40-45.
15. Horiba, 2016, *A Guidebook to Particle Size Analysis*, Horiba Instruments, Inc., New Jersey.
16. Dwivedi, C., Kesharwani, S., Tiwari, S.P., Satapathy, T., Roy, A., Phytosomes an Emerging Technology for Herbal Drug Delivery: an Approach to Hepatoprotection, *World Journal of Pharmaceutical Research*, 2014, 3(2): 3443-3461.
17. Pratiwi, Endah, 2010, Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis Paniculata* (Burm.f.) Nees), **Skripsi**. Tidak Diterbitkan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
18. Putri, A.A., 2015, Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstraksi Terhadap Kadar Senyawa yang Berpotensi Memiliki Aktivitas Analgetik dari Ekstrak Daun dan Buah Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.), **Skripsi**. Tidak Diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung.
19. Zailanie, K., Susanto, T., Simon, B.W., Ekstraksi dan Pemurnian Alginat dari *Sargassum filipendula* Kajian dari Bagian Tanaman, Lama Ekstraksi dan Konsentrasi Isopropanol, *Jurnal Teknologi Pertanian*, 2001, 2(1): 10-27.
20. Tripathy, S., Patel, D.K., Baro, L., Nair, S.K., A Review on Phytosomes, Their Characterization, Advancement & Potential for Transdermal Application, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 2013, 3(3): 147-152.
21. Maryana, W., Rahma, A., Mudhakir, D., Rachmawati, H., Phytosome Containing Silymarin for Oral Administration: Formulation and Physical Evaluation, *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering*, 2015, 25: 54-65.
22. Das, M.K. and Kalita, B., Design and Evaluation of Phyto-Phospholipid Complexes (Phytosomes) of Rutin for Transdermal Application, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2014, 4(10): 51-57.
23. Sumathi, A., and Senthamarai, R., Design and Development of Phytosomes Containing Methanolic Extracts of *Nymphaea Nouchali* and *Trichosanthes Dioica*, *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(4): 1211-1221.

24. Rasaie, S., Ghanbarzadeh, S., Mohammadi, M., Hamishehkar, H., Nano Phytosomes of Quercetin: A Promising Formulation for Fortification of Food Products with Antioxidants, *Pharmaceutical sciences*, 2014, 20, 96-101.
25. Demir, B., Barlas, F.B., Guler, E., Gumus, P.Z., Can, M., Yavuz, M., et al, Gold Nanoparticle Loaded Phytosomal Systems: Synthesis, Characterization and In Vitro Investigations, *Royal Society of Chemistry Advances*, 2014, 4, 34687-34695.
26. Keck, C.M., 2006, Cyclosporine Nanosuspensions: Optimised Size Characterisation & Oral Formulations, **Dissertation**. Not Published, Department of Biology, Chemistry and Pharmacy, Freie Universität Berlin, Berlin.
27. Wang, Guang and Wang, Tong, Oxidative Stability of Egg and Soy Lecithin as Affected by Transition Metal Ions and pH in Emulsion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(23): 11424–11431.
28. Aniket, Saurabh, S.S., Pandey, N., Rathore, K.S., Gaur, A., Issarani, R., Preparation and Characterization of Soy-Phytosomes using Ethanol: Water (70:30) Solvent System, *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 1(1):18-26.
29. Dewi, R.K., 2010, Optimasi Formulasi Mikroemulsi Sediaan Hormon Testosteron Undekanoat, **Skripsi**. Tidak Diterbitkan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
30. Luthfiyah, S., Gusmayadi, I., Elfiyanti, R., Pengaruh Perbedaan Suhu Penyimpanan Terhadap Stabilitas Liposom Teofilin dengan Komponen Pembentuk Lesitin – Kolesterol, *E-Journal UHAMKA*, 2013, 1-8.
31. Purwanti, A., Setiawan, N., Christina, D., Penambahan Alginat Sebagai Emulsifier pada Susu dari Kulit Pisang dan Kacang Hijau (Litsang-ljo), *SNaTKII II*, 2015, 32-45.
32. Karthivashan, G., Masarudin, M.J., Kura, A.U., Abas, F., Fakurazi, S., Optimization, Formulation, and Characterization of Multiflavonoids-Loaded Flavanosome by Bulk or Sequential Technique, *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 11: 3417-3434