

## Uji Transpor Flavonoid Total Sediaan Emulgel Buah Stroberi (*Fragaria vesca* L.) Melewati Membran Shed Snakeskin

*Transport Test of Total Flavonoid Model of Strawberry Emulgel (Fragaria vesca L.) Through Shed Snakeskin Membrane*

Dian Eka Ermawati<sup>1\*</sup>, Suwaldi Martodihardjo<sup>2</sup>, T.N Saifullah Sulaiman<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departemen Farmasi, Sekolah Vokasi, Universitas Sebelas Maret

<sup>2</sup> Departemen Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada,

Corresponding author: Dian Eka Ermawati: Email: dianekae@staff.uns.ac.id

Submitted: 02-10-2022

Revised: 16-03-2023

Accepted: 24-03-2023

### ABSTRAK

Buah stroberi mengandung antioksidan diantaranya *quercetin-3-β-D-glucoside*, *coenzym Q10*, antosianin *pelargonidin-3-O-glucoside* dan *cyandin-3-glucoside*. Jumlah antosianin dan flavonoid dalam buah cenderung mengalami penurunan 40-50% setelah proses formulasi sehingga perlu pengembangan formula untuk dapat diaplikasikan sebagai sediaan topikal. Kombinasi emulgator dapat menstabilkan zat aktif serta meningkatkan daya permeasi sediaan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan profil permeasi flavonoid total sediaan emulgel buah stroberi dengan kombinasi emulgator. Penelitian ini menggunakan model flavonoid total dari emulgel buah stroberi. Emulgel dibuat dengan kombinasi emulgator span 80: croduret 50: propilen glikol pada rasio 2: 4: 2. Sediaan emulgel dilakukan uji permeasi menggunakan sel difusi Franz tipe vertikal modifikasi dilengkapi dengan membran *Shed Snakeskin*. Hasil uji permeasi menunjukkan jumlah komulatif flavonoid total yang tertransport melewati membran shed snakeskin sebesar 117,14 µg/cm<sup>2</sup> dari total 2,24 mg buah stroberi dalam formula emulgel selama 5 jam. Permeabilitas membran *shed snakeskin* adalah 2,84x10<sup>-5</sup> µg/cm<sup>2</sup> dan nilai flux 6,6x10<sup>-5</sup> µg/detik. Kinetika pelepasan yang diperoleh mengikuti model kinetika Higuchi dengan mekanisme difusi.

**Kata kunci:** flavonoid; permeasi, Franz; emulgator; *shed snakeskin*

### ABSTRACT

Strawberries contain antioxidants, including *quercetin-3-β-D-glucoside*, *coenzyme Q10*, *anthocyanins pelargonidin-3-O-glucoside*, and *cyandin-3-glucoside*. The amount of *anthocyanins* and *flavonoids* in fruit tends to decrease by 40-50% after the formulation process, so it is necessary to develop a formula to be applied as a topical preparation. The combination of emulsifiers can stabilize the active substance and increase the permeation of the preparation. This study aims to determine the total flavonoid permeation profile of strawberry fruit emulgel preparations with a combination of emulsifiers. This study used a total flavonoid model from strawberry emulgel. Emulgel was prepared with a combination of emulsifier span 80: croduret 50: propylene glycol at a ratio of 2: 4: 2. The permeation test was carried out using a modified vertical Franz diffusion cell equipped with *Shed Snakeskin* membrane. The permeation test results showed that the cumulative amount of total flavonoids transported across the *shed snakeskin* membrane was 117.14 g/cm<sup>2</sup> out of a total of 2.24 mg of strawberries in the emulgel formula for 5 hours. The permeability of the *snakeskin shed* membrane was 2.84x10<sup>-5</sup> g/cm<sup>2</sup>, and the flux value was 6.6x10<sup>-5</sup> g/sec. The release kinetics follow the Higuchi kinetic model with the diffusion mechanism.

**Keywords:** flavonoid; permeation; Franz's diffusion Cell; emulgator; *shed snakeskin*

### PENDAHULUAN

Antioksidan dalam buah stroberi dapat meningkatkan perlindungan kulit dari bahaya sinar ultraviolet dan stress oksidatif yang dapat mempercepat proses penuaan kulit serta dapat merangsang produksi kolagen yang merupakan bagian penting pada proses peremajaan kulit

(Rozman dkk., 2009). Warna merah buah stroberi dikarenakan dua tipe zat warna antosianin, yang juga merupakan sumber antioksidan, yaitu *pelargonidin-3-O-glucoside* adalah pigmen warna merah cerah dan *cyandin* adalah pigmen warna merah tua (Gössinger dkk., 2009). Buah stroberi merupakan sumber

antioksidan alami karena mengandung asam askorbat, polifenol (Wang dan Jiao, 2000), quercetin-3- $\beta$ -D-glucoside (Zhu dkk., 2015). Buah stroberi juga mengandung *coenzym Q10* (Kubo dkk., 2008), dan telah dilakukan penelitian bahwa jus buah stroberi dapat menangkal radikal bebas seperti *superoxide radicals*, *hydrogen peroxide*, *hydroxyl radicals*, dan *singlet oxygen* (Wang dan Jiao, 2000). Penelitian terbaru menyebutkan bahwa jus buah stroberi mampu menghambat pigmentasi kulit dengan mekanisme aksi menghambat pembentukan melanin yaitu pigmen warna coklat, melalui jalur penghambatan aktivitas enzim *tyrosinase*, sehingga kulit tampak lebih cerah (Zhu dkk., 2015). Agar potensi antioksidan buah stroberi dapat diaplikasikan pada kulit maka dikembangkan bentuk sediaan emulgel. Emulsi dalam sediaan kosmetik dapat mengontrol pelepasan dan mengoptimalkan penyebaran komponen aktif sediaan kosmetik terutama transport komponen hidrofilik sampai ke lapisan kulit terdalam, sehingga meningkatkan

efek bioaktif dari sediaan kosmetik (Ali dkk., 2012). Antosianin jus buah stroberi memiliki stabilitas dan daya penetrasi ke dalam kulit yang rendah, selain itu selama proses pabrikasi konsentrasinya akan mengalami penurunan masing-masing 53% untuk kandungan pelargonidin-3-O-glucoside (Bursac Kovačević dkk., 2009) dan 40% untuk kandungan flavonoid kuersetin (Häkkinen dkk., 2000). Permasalahan tersebut, dapat diatasi dengan mengembangkan formulasi sediaan topikal emulgel untuk meningkatkan stabilitas dan daya penetrasi ke dalam kulit (Parveen dkk., 2011). Tipe emulsi yang dipilih sebagai sistem pembawa adalah emulsi a/m (air/minyak) yang selanjutnya didispersikan dalam matrik gel. Sediaan emulsi a/m yang stabil membutuhkan emulgator yang tepat, agar dapat menyatukan komponen air dan minyak. Emulgator yang biasa digunakan adalah span 80, cremofor, propilen glikol karena memiliki fungsi tidak hanya sebagai emulgetor, namun juga sebagai humektan, *emollient* serta *co-solvent* (Rowe dkk., 2013).

Penelitian ini akan dilakukan pembuatan emulsi minyak/air dengan kombinasi emulgator span 80: croduret 50: propilen glikol pada rasio 2: 4: 2 (Ermawati dkk., 2017), kemudian didispersikan dalam matrik gel. Permeasi kandungan aktif buah stroberi dengan model

flavonoid total secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui jumlah zat aktif dan kecepatan zat aktif yang dapat melewati membrane. Pengujian *in vitro* permeasi suatu sediaan dilakukan untuk menggambarkan kinerja atau *performance* dari produk, kinerja produk ini digunakan untuk mengetahui kemampuan kombinasi emulgator dalam melepaskan flavonoid total. Metode *in vitro* memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode *in vivo*, yaitu pengujiannya yang lebih cepat dan menghindari penggunaan hewan uji. *Shed snakeskin* digunakan sebagai membran pada penelitian ini sebagai pengganti membran kulit tikus dengan model uji sel difusi tipe Franz, dan menunjukkan permeabilitas menyerupai membran stratum korneum manusia (Ngawhirunpat dkk., 2006). Kemiripan hasil tersebut berdasarkan kemiripan sifat dan komponen lipid penyusun stratum korneum. Hal ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada *shed snakeskin* dari berbagai spesies ular (Kumpugdee-Vollrath dkk., 2011). Berdasarkan pernyataan di atas, maka dilakukan uji *in vitro* permeasi sediaan emulgel dengan model flavonoid total dalam buah stroberi.

## METODE

**Alat:** stirrer 100-2000 rpm (Stuart Overhead Stirrer), neraca analit (Sartorius BP 310P), mikropipet, pH meter (Hanna), pH-indicator strips (E.Merck), hotplate, magnetic stirrer (Stuart CB162), spektrofotometer UV-VIS (Genesys 10 UV Scanning), alat difusi tipe Franz (Pearmea Gear, dibuat oleh laboratorium proses material Departemen Teknik Fisika ITB), Viskometer Brookfield cone and plate (DV-I Prime), mikroskop digital (Olympus CX-41), sentrifuge 600-6000 rpm (5804R), climated chamber suhu 45°C, Moisture Ballance (Ohaus MB23, Germany), alat Freez-Drying (alpha LD plus), membran selofan (Spectrapor membrane tubing MW cutoff 6000-8000), Blander (National). **Bahan:** Buah stroberi segar dipanen di desa Banyuroto, Kecamatan Sawangan, Magelang, Jawa Tengah, Span 80 (dikemas ulang PT. Bratachem), Isopropil miristat p.a (Merck), etanol 96% p.a (Merck), propilen glikol farmasetis (dikemas ulang PT. Bratachem), croduret 50 ss (CRODA), HCl 0,1% (Merck), PEG-400 (dikemas ulang PT. Bratachem), polygel Ca (dikemas ulang PT. Bratachem), TEA (dikemas ulang PT. Bratachem), Tween 80 (dikemas ulang PT. Bratachem), reagen DPPH (Sigma), baku

Table I. Formula emulgel buah stroberi (Ermawati et al., 2017)

Komponen Formula	Konsentrasi (%)	Fungsi
Serbuk buah stroberi	1,0	Zat aktif
PEG 400-HCl 0,1%	12,0	Solven buah stroberi
Asam Benzoat	0,1	preservative
Span 80	2,0	Emulgator lipofilik
Croduret 50	4,0	Emulgator hidrofilik
Propilen Glikol	2,0	Ko-emulgator
Isopropil Miristat	18,9	Fase minyak
Polygel Ca	1,5	Polimer gel
Trietanolamin	1,5	Pembasa
Tween 80	2,0	Agent pembasah
Dapar pH 5,4	55,0	Pelarut
Bobot formula	<b>100,0</b>	

kuersetin (sigma), KCl (Merck), CH<sub>3</sub>COONa (Merck), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (dinatrium fosfat) anhidrat (Merck), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (mono kalium fosfat), HCl 37% p.a (Merck), kertas whattmann No.1, *shed snakeskin* (pemelihara ular, Yogyakarta), NaCl (Merck), Asam Benzoat (dikemas ulang PT. Bratachem), asam sitrat (dikemas ulang PT. Bratachem).

#### Preparasi Sampel

Tanaman stroberi diidentifikasi di laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia. Buah stroberi segar ditimbang 2,0 Kg lalu diblender tanpa menggunakan air, selanjutnya dilakukan pengeringan dengan alat *Freeze Dryer*. Serbuk buah stroberi kering diukur kandungan airnya menggunakan alat *Moisture Analyzer*.

#### Pengujian Aktivitas Antioksidan

Reagen kering DPPH ditimbang seksama 15,8 mg selanjutnya dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% p.a dalam labu takar 100,0 mL hingga batas pada labu takar. Larutan DPPH 0,4 mM diambil sejumlah 1,0 mL dan ditambahkan etanol 96% p.a add 5,0 mL. Seri konsentrasi larutan dibuat pada konsentrasi 80 µg/mL, 120 µg/mL, 240 µg/mL, 320 µg/mL, dan 640 µg/mL selanjutnya dilakukan *scanning* panjang gelombang pada rentang 200-700 nm dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS. Persamaan kurva baku yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan buah stroberi, larutan etanol 96% p.a digunakan sebagai blanko.

Serbuk buah stroberi sejumlah 500 mg dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% p.a dalam labu takar 50 mL. Larutan stok diambil sejumlah volume masing-masing: 0,5 mL; 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL dan 5,0 mL dalam labu takar 5,0 mL dan ditambahkan etanol 96% p.a hingga tanda batas.

Larutan serbuk buah stroberi kering (stok) diambil sejumlah 2,0 mL selanjutnya dimasukkan dalam labu takar, kemudian ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH 0,4 mM dan etanol 96% hingga tanda batas yang tertera pada labu takar 5,0 mL. Seri larutan tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada Panjang gelombang maksimum DPPH (Musa dkk., 2013). Kurva baku diperoleh dengan membuat hubungan antara konsentrasi dengan aktivitas antioksidan buah stroberi. Perhitungan linieritas kurva baku dilakukan dengan menghitung nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang memberikan linearitas paling baik ( $r > 0,99$ ). Berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh, dapat dihitung IC<sub>50</sub> buah stroberi kering (Musa dkk., 2013).

#### Penetapan Kadar Flavonoid Buah Stroberi

Penentuan panjang gelombang kuersetin dalam larutan etanol 96% p.a

Baku kuersetin ditimbang seksama 25,0 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% p.a dalam labu takar 25,0 mL (stok I). Larutan stok I selanjutnya diambil sejumlah 1,0 mL kedalam labu takar 50,0 mL lalu ditambahkan etanol 96% p.a sampai tanda batas yang tertera pada labu takar (stok II). Larutan stok II selanjutnya dilakukan *scanning* dengan menggunakan alat

spektrofotometer UV-VIS pada rentang panjang gelombang 200-500 nm, dan larutan etanol 96% p.a digunakan sebagai blanko.

Pembuatan kurva baku kuersetin dengan konsentrasi 2,0 µg/mL-10,0 µg/mL

Larutan stok II kuersetin, diambil masing-masing sejumlah 0,5 mL; 1,0 mL; 1,5 mL; 2,0 mL; dan 2,5 mL ke dalam labu takar 5,0 mL kemudian ditambahkan etanol 96% p.a. untuk mendapatkan seri kadar. Seri larutan tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum flavonoid. Kurva baku diperoleh dengan membuat hubungan antara konsentrasi kuersetin dengan nilai absorbansinya. Perhitungan linieritas kurva baku dilakukan dengan menghitung nilai koefisien korelasi ( $r$ ). Persamaan kurva baku yang dipilih adalah yang memberikan linearitas  $r > 0,99$ .

Penetapan kadar flavonoid total buah stroberi

Jus buah stroberi kering ditimbang 500,0 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% p.a dalam labu takar 5,0 mL, dilakukan penggojogan selama 30 detik, selanjutnya larutan disaring. Filtrat jus buah stroberi kering diambil sejumlah 1,0 mL ke dalam labu takar 50,0 mL dan ditambahkan etanol 96% p.a sampai tanda batas yang tertera pada labu takar. Larutan jus buah stroberi kering kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV- VIS pada panjang gelombang maksimum kuersetin dengan menggunakan blanko larutan etanol 96% p.a. Kadar flavonoid total jus buah stroberi kering dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier kurva baku kuersetin, dimana "y" merupakan nilai absorbansi jus buah stroberi kering.

**Formulasi sediaan emulgel buah stroberi**

Jus buah stroberi kering 1,0-gram dilarutkan dengan 12,0 mL pelarut PEG400-HCl 0,1 %, kemudian disaring dan ditambahkan asam benzoat sejumlah 0,1%. Fase Minyak Isopropil miristat sejumlah 19,0 mL dituang ke dalam beker gelas 250,0 mL, selanjutnya ditambahkan campuran emulgator span 80, croduret 50 dan propilen glikol, aduk dengan menggunakan *stirrer* pada kecepatan 2000 rpm. Fase air yang mengandung buah stroberi kering dituangkan sedikit demi sedikit ke dalam campuran emulgator dan fase minyak,

pengadukan dilakukan selama 15 menit pada suhu ruang (25 °C) hingga terbentuk emulsi a/m yang homogen (Ermawati et al., 2007).

*Polygel Ca* dilarutkan dalam larutan dapar pH 5,4 yang dipanaskan diatas *waterbath* pada suhu 60°C, ditambahkan sedikit demi sedikit TEA agar terbentuk gel yang jernih dan mengembang dengan sempurna. Hidrogel sebagai fase sekunder dituangkan ke dalam beker gelas 250,0 mL, kemudian ditambahkan surfaktan yaitu tween 80. Campuran dihomogenkan dengan stirer pada kecepatan 650 rpm, selanjutnya emulsi a/m dituangkan sedikit demi sedikit. Pengadukan dilakukan selama 10 menit hingga terbentuk emulgel.

**Penetapan kadar flavonoid total sediaan emulgel buah stroberi**

Formula optimum emulgel jus buah stroberi kering ditimbang seksama 1,0 gram, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% p.a hingga batas pada labu takar 10,0 mL (stok I), larutan kemudian dihomogenkan dengan bantuan vortex. Larutan stok I diambil sejumlah 1,0 mL ke dalam labu takar 50,0 mL kemudian ditambahkan etanol 96% p.a sampai tanda batas pada labu takar, selanjutnya larutan disaring menggunakan kertas saring. Dilakukan pembacaan absorbansi filtrat pada panjang gelombang maksimal flavonoid. Kadar flavonoid dalam formula optimum emulgel jus buah stroberi kering dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier hasil pembuatan kurva baku kuersetin. Perlakuan diulang tiga kali (Häkkinen dkk., 2000).

**Uji stabilitas sediaan emulgel buah stroberi**

Formula emulgel buah stroberi dilakukan uji stabilitas dengan metode *cycling test* yaitu disimpan pada suhu rendah yaitu -4°C selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke suhu 45°C selama 24 jam. Siklus diulang sebanyak enam kali, kemudian dilakukan pengamatan apakah terjadi *creaming, flocculation, dan coalescence*. Pengamatan sifat fisik kimia meliputi:

Viskositas

Formula optimum emulgel emulgel buah stroberi sejumlah 75,0 g dituangkan ke dalam gelas aluminium pada alat viskometer Rion, selanjutnya dilakukan pengukuran viskositas dengan menggunakan spindle no.1 selama 10 menit.

**Pengukuran pH**

Formula optimum emulgel jus buah stroberi kering 1,0 gram ditambahkan akuades 9,0 gram, larutan selanjutnya dihomogenkan dan dilakukan pembacaan besarnya pH dengan menggunakan alat pH meter. Sebelum digunakan alat pH meter dilakukan kalibrasi terlebih dahulu dengan larutan dapar pH 4 dan pH 7 pada suhu ruang 25°C. Pengukuran pH sediaan dilakukan pada hari ke-1 dan hari ke-28 pada suhu 25°C.

**Luas area sebar emulgel jus buah stroberi kering**

Formula optimum emulgel jus buah stroberi kering, setelah didiamkan selama 2 hari, ditimbang 0,5-gram dan diletakkan diatas kaca bulat berskala, tutup dengan kaca bulat yang telah ditimbang bobotnya. Diletakkan beban 150,0-gram diatasnya selama 1 menit, diukur diameter area sebar emulgel menggunakan mistar. Pengukuran dilakukan pada empat sisi secara vetikal, horizontal, dan diagonal (Garg dkk., 2002).

**Uji Transpor membran**

*Shed snakeskin* ular piton jenis albino didapatkan dari pemelihara ular di Daerah Pogung Yogyakarta, dipotong 4 x 4 cm bagian yang masih utuh, cuci bersih dan rendam dalam larutan buffer fosfat salin pH 7,4 selama 24 jam (Kumpugdee-Vollrath dkk., 2013). Membran shelifan dipotong 4 x 4 cm kemudian direndam dalam larutan dapar fosfat salin pH 7,4 selama 24 jam, sebagai membrane penopang.

Baku kuersetin diitimbang seksama 25,0 mg kemudian dilarutkan dengan larutan dapar pospat salin pH 7,4 sampai tanda batas pada labu takar 25,0 mL (stok I). Larutan stok I diambil sejumlah 0,1 mL ke dalam labu takar 10,0 mL, selanjutnya ditambahkan larutan PBS sampai tanda batas (stok II). *Scanning* panjang gelombang maksimal kuersetin dalam larutan dapar fosfat salin pH 7,4 pada rentang panjang gelombang 200-450 nm (Kameda dkk., 1987).

Kurva baku dibuat dengan mengambil sejumlah larutan stok II yaitu 100,0 µL, 200,0 µL, 300,0 µL, 400,0 µL dan 500,0 µL dengan menggunakan mikropipet ke dalam labu takar 10,0 mL, selanjutnya ditambahkan larutan PBS sampai tanda batas untuk memperoleh seri kadar. Seri kadar larutan tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum kuersetin dalam PBS. Kurva baku diperoleh dengan membuat

hubungan antara konsentrasi kuersetin dengan nilai absorbansi yang diperoleh. Perhitungan linieritas kurva baku dilakukan dengan menghitung nilai koefisien korelasi (r). Persamaan kurva baku dipilih berdasarkan pada linearitas paling baik (r> 0,99).

Formula emulgel buah stroberi sejumlah 1,0-gram dituangkan ke dalam kompartemen donor, pengujian dilakukan dengan menggunakan alat sel difusi model Franz. Kompartemen reseptor diisi dengan dapar fosfat salin pH 7,4 sejumlah 25,0 mL dan diadakan menggunakan *magnetic stirrer* 100 rpm, selanjutnya diletakkan diatas thermolyne suhu 35±1°C. Pengambilan larutan sampel dilakukan dalam kurun waktu 5 jam, pengambilan larutan sampel sebanyak 2,0 mL dari kompartemen reseptor menggunakan pipet volume 1,0 mL dan digantikan dengan larutan dapar fosfat salin pH 7,4 sejumlah volume yang diambil. Pengambilan sampel larutan pada menit ke 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 270 dan 300. Larutan sampel selanjutnya dituangkan ke dalam flakon kaca, sebelum diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimal flavonoid kuersetin dalam larutan PBS, sebagai blanko dibuat larutan dapar fosfat salin pH 7,4. Berdasarkan data absorbansi yang diperoleh, kemudian dilakukan perhitungan jumlah komulatif flavonoid yang tertranspor melewati membran *shed snakeskin*.

**Analisa Data**

Analisa statistika student's t-Test p- value 95% untuk membandingkan hasil sifat fisika kimia emulgel selama uji stabilitas. Penetapan kadar zat aktif buah stroberi dan emulgel menggunakan persamaan regresi linier y= bx+a. Perhitungan jumlah komulatif kuersetin yang tertranspor melewati membrane *shed snakeskins*, dihitung dengan rumus (Sinko, 2013):

$$Q = \{C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C \times S\} : A \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan: Q : Jumlah komulatif sampel menembus membran per luas area difusi (µg/cm<sup>2</sup>); C<sub>n</sub> : Konsentrasi sampel (µg/mL) pada menit ke-n; V : Volume sel difusi Franz (25,0 mL);  $\sum_{i=1}^{n-1} C$ : Jml konsentrasi sampel (µg/mL) menit ke-0 sampai sebelum menit ke-n; S : Volume sampling (2,0 mL); A: Luas area membran (1,4 cm<sup>2</sup>)

Parameter permeabilitas dapat ditentukan berdasarkan persamaan Hukum Fick I:

$$\frac{Q}{A} = P_{app} \times C_{Do} \times t \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan : Q : Jml komulatif sampel menembus membran per luas area difusi ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ );  $P_{app}$  : Permeabilitas ( $\text{mL}/\text{cm}^2/\text{jam}$ ); A : Luas membran difusi ( $\text{cm}^2$ );  $C_{Do}$  : Konsentrasi obat pada kompartemen donor ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ); t : waktu (jam)

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi anatomi dan morfologi tanaman stroberi di Laboratorium Taksonomi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, menyebutkan bahwa tanaman stroberi yang berasal dari Desa Banyuroto Magelang adalah tanaman stroberi dari Familia: *Rosaceae*, Genus: *Fragaria*, serta Species: *Fragaria vesca* L. Proses *freeze drying* dilakukan untuk mengurangi kandungan air yang terkandung dalam jus buah stroberi, namun tanpa menggunakan pemanasan, sehingga tidak merusak kandungan aktif akibat pengaruh suhu dan pH, juga untuk mengurangi kandungan air dalam buah hingga mencapai <10% sehingga dapat menghambat reaksi enzimatik, serta melindungi dari tumbuhnya mikroba (Departemen Kesehatan, 2009). Proses *freeze drying* dilakukan selama 96 jam hingga didapatkan serbuk kering buah stroberi. Berat serbuk buah stroberi adalah 279,24-gram dari bobot awal buah stroberi 2000,0 gram, sehingga dapat dihitung randemen sampel adalah 13,96%. Kandungan air serbuk buah stroberi adalah 13,46%.

#### Aktivitas antioksidan

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal DPPH, yang akan digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan jus buah stroberi kering adalah 518 nm dengan *operating time* tidak melebihi batas waktu 30 menit. Hasil perhitungan nilai  $IC_{50}$  buah stroberi kering terhadap radikal bebas DPPH pada penelitian ini adalah 0,331 mg/mL, hal ini sedikit lebih besar bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah stroberi dengan pereaksi DPPH yaitu 0,238 mg/mL (Zhu dkk., 2015). Nilai  $IC_{50}$  dihitung untuk mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan atau menyatakan

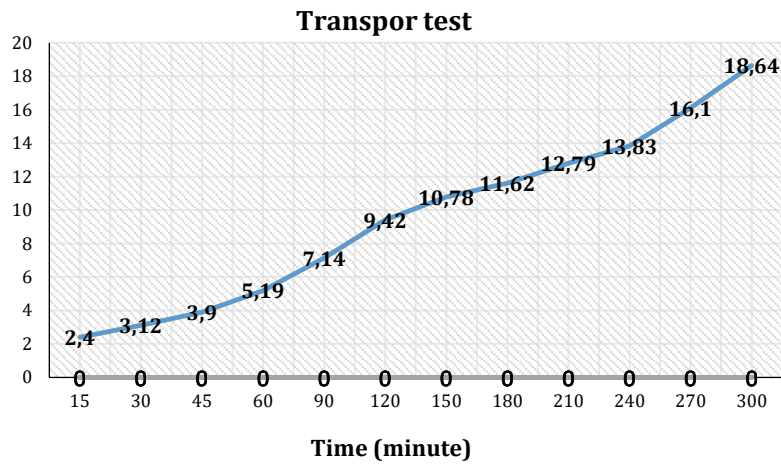
konsentrasi larutan buah stroberi (mg/mL) yang dibutuhkan untuk meredam radikal DPPH sebesar 50% (Musa dkk., 2013). Persamaan kurva baku yang didapat adalah  $y = 0,0855x + 21,677$  dengan nilai  $r = 0,991$ .

#### Kadar flavonoid total buah dan sediaan emulgel stroberi

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal flavonoid kuersetin dalam pelarut etanol 96% p.a pada rentang 200-600 nm adalah 377 nm. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi buah stroberi kering, maka dipilih kurva baku flavonoid kuersetin pada rentang konsentrasi 2,0-10,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Hubungan antara kadar flavonoid kuersetin dengan nilai absorbansinya diperoleh persamaan kurva baku  $y = 0,0675x - 0,004$ . Rata-rata kadar flavonoid dalam buah stroberi kering adalah 0,465 mg/100g. Persamaan kurva baku yaitu  $y = 0,0763x + 0,0017$  dari harga koefisien korelasi (r) lebih dari 0,99. Rata-rata kadar flavonoid dalam emulgel buah stroberi kering pada hari pertama adalah 0,447 mg/100g, selama 28 hari penyimpanan kadarnya menjadi 0,071 mg/100g. Menurut penelitian yang menyebutkan bahwa buah stroberi mengandung flavonoid kuersetin 0,17mg/100g, setelah mengalami perlakuan atau proses pembuatan sediaan emulgel serta disimpan selama kurun waktu 28 hari pada suhu ruang, maka kadar kuersetin akan mengalami penurunan sebesar 40% (Häkkinen dkk., 2000). Kandungan flavonoid kuersetin sekitar 15% yang masih berada dalam sediaan emulgel, artinya selama proses pembuatan sediaan emulgel buah stroberi kering, kandungan aktif flavonoid mengalami penurunan, akibat faktor lingkungan yaitu reaksi oksidasi, pH dan suhu.

#### Uji stabilitas emulgel

Sediaan emulgel menunjukkan adanya pengendapan, kemungkinan terjadi karena rusaknya emulsi (*coalescence*) akibat perlakuan suhu ekstrim pada saat uji *cycling test*, hal ini disebabkan oleh terjadinya kristalisasi pada fase kontinu yang menyebabkan rusaknya film antarmuka ketika emulsi mengalami pendinginan dibawah suhu 0°C dan pemanasan mencapai suhu 45°C. Artinya formula emulsi primer kurang stabil terhadap perubahan suhu (Palazolo dkk., 2011). Pemisahan fase ketika sediaan disimpan pada suhu rendah kemungkinan terjadi karena adanya kristalisasi pada fase kontinu yang menyebabkan



Gambar 1. Grafik hasil uji yang menunjukkan jumlah komulatif bobot flavonoid total yang tertranspor melewati membran shed snakeskin selama 300 menit

Table II. Hasil pengujian sifat fisika kimia sediaan emulgel buah stroberi selama 6 siklus uji cycling test

Viskositas (d.Pas)		pH		Daya sebar (cm)	
sebelum	setelah	sebelum	setelah	sebelum	setelah
105,67±4,04	101,67±7,64	6,52±0,05	6,82±0,06	3,60±0,3	4,30±0,2

Table III. data hasil uji transport membran sediaan emulgel buah stroberi

Time (minute)	Rata-rata bobot tertranspor (mg)	Q/A (µg/cm <sup>2</sup> )
0	0,0034	2,21
15	0,0037	2,40
30	0,0048	3,12
45	0,0060	3,90
60	0,0080	5,19
90	0,0110	7,14
120	0,0145	9,42
150	0,0166	10,78
180	0,0179	11,62
210	0,0197	12,79
240	0,0213	13,83
270	0,0248	16,10
300	0,0287	18,64
Qkum	0,1803	117,14

A = luas membran (1,54 cm<sup>2</sup>)

rusaknya film antarmuka saat emulsi mengalami pendinginan. Sedangkan penyimpanan pada suhu tinggi akan mengurangi tegangan antar muka dan viskositas, dan penyimpanan pada suhu ruang dianggap sebagai temperatur dimana sifat-sifat

hidrofilik dan lipofilik berada dalam keseimbangan sehingga emulsi cenderung stabil. Perubahan temperatur dapat mengubah koefisien distribusi pengemulsi antara dua fase dan menyebabkan migrasi emulgator (Lachman dkk., 2007).

Luas area sebar menunjukkan peningkatan, hal ini dikarenakan komponen emulgator yaitu croduret 50 dan span 80 semakin lama disimpan pada suhu ruang (diatas 25°C) maka akan semakin cair (liquid) (Naqvi dkk., 2015), sehingga menurunkan viskositas sediaan, dengan menurunnya viskositas maka meningkatkan luas area sebar sediaan emulgel. Nilai pH formula emulgel sudah sesuai dengan pH kulit manusia yaitu antara 4,5-7,0 (Kogan dan Garti, 2006). Nilai pH sediaan emulgel cenderung konstan, artinya hidrogel mampu menstabilkan pH sehingga diharapkan mampu menstabilkan komponen aktif dari pengaruh lingkungan.

#### Uji transport membran

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal flavonoid total dalam pelarut dapar pospat salin pH 7,4 pada rentang 200-600 nm adalah 372 nm. Data panjang gelombang maksimal ini, digunakan pada pembuatan kurva baku kuersetin dalam pelarut dapar pospat salin pH 7,4 dan untuk menghitung kadar flavonoid formula sediaan emulgel buah stroberi kering melewati membran *shed snakeskin*. Kadar kuersetin dengan nilai absorbansinya diperoleh persamaan kurva baku  $y = 0,0548 x - 0,0071$ . Dari persamaan kurva baku kuersetin dapat dihitung kadar flavonoid total dalam formula emulgel buah stroberi kering.

Membran *shed snakeskins* sebagai pengganti membran kulit tikus dengan model uji sel difusi tipe Franz, menunjukkan permeabilitas menyerupai membran stratum korneum manusia (Ngawhirunpat dkk., 2006). Kemiripan hasil tersebut berdasarkan kemiripan sifat, suhu, kekentalan cairan tubuh, serta komponen lipid penyusun stratum korneum. Hal ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada *shed snakeskins* dari berbagai spesies ular (Kumpugdee-Vollrath dkk., 2011). Grafik profil jumlah kumulatif flavonoid yang tertransport melewati membran *shed snakeskin* sediaan emulgel buah stroberi kering disajikan pada gambar 1. Berdasarkan profil tersebut, jumlah kumulatif flavonoid yang tertransport melewati membran *shed snakeskin* sediaan emulgel buah stroberi kering terus mengalami kenaikan per satuan waktu sampai menit ke-300. Jumlah kumulatif flavonoid sediaan emulgel buah stroberi yang tertransport selama 5 jam pengujian adalah 117,14  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

dari total 2,24 mg sampel buah stroberi kering dalam formula. Nilai permeabilitas membran *shed snakeskin* adalah  $2,84 \times 10^{-5}$  cm/detik dan nilai flux sebesar  $6,6 \times 10^{-5}$   $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Data hasil uji transport melewati membran *shed snakeskin* sediaan emulgel buah stroberi kering, tersaji pada tabel III. Transport komponen aktif flavonoid dari sediaan emulgel buah stroberi kering melewati membran *shed snakeskin* pada penelitian ini, kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa komponen bahan penyusun formula emulgel yang dikenal sebagai *enhancer*, antara lain isopropyl miristat (Tsai dkk., 2010) dan propilen glikol (Arellano dkk., 1999). Isopropil miristat mengakibatkan terjadinya perubahan struktur lemak di stratum korneum. Perubahan tersebut mengakibatkan berkurangnya panjang jalur penetrasi obat serta meningkatkan permeabilitas kulit, sehingga difusi zat aktif ke dalam kulit meningkat (Tsai dkk., 2010). Propilen glikol selain sebagai emulgator, juga berfungsi sebagai emolient untuk membentuk celah pada sisi-sisi stratum korneum sehingga memudahkan zat aktif menembus kulit (Arellano dkk., 1999). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh isopropil miristat, propilen glikol, dan komponen lain penyusun formula emulgel buah stroberi kering terhadap profil transport komponen aktif melewati membran secara in vitro.

#### KESIMPULAN

Kombinasi emulgator span 80-croduret 50- propilen glikol menghasilkan sediaan emulgel yang memenuhi syarat sediaan gel yang baik. Kadar flavonoid sediaan emulgel buah stroberi kering adalah 1,80%. Jumlah kumulatif flavonoid sediaan emulgel buah stroberi kering yang tertransport melewati membran *shed snakeskin* 117,14  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  dari 2,24 mg jumlah flavonoid dalam sediaan emulgel selama lima jam, serta nilai permeabilitas membran  $2,84 \times 10^{-5}$   $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  dan nilai flux  $6,6 \times 10^{-5}$   $\mu\text{g}/\text{detik}$ . Kinetika pelepasan yang diperoleh mengikuti model kinetika Higuchi dengan mekanisme difusi.

#### DAFTAR PUSTAKA

Ali, M.D., Alam, M.I., Shamim, M., Imam, F., Anwer, T., Siddiqui, M.R., dkk., 2012. Design and Characterization of Nanostructure Topical Gel of



- Betamethasone Dipropionate for Psoriasis. [japsonline.com](http://japsonline.com).
- Arellano, A., Santoyo, S., Martín, C., dan Ygartua, P., 1999. Influence of propylene glycol and isopropyl myristate on the in vitro percutaneous penetration of diclofenac sodium from carbopol gels. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7: 129–135.
- Bursać Kovačević, D., Levaj, B., dan Dagović-Uzelac, V., 2009a. Free radical scavenging activity and phenolic content in strawberry fruit and jam. *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS)*, 74: 155–159.
- Departemen Kesehatan, R., 2009. *Materia Medika Indonesia*, I. Departemen Kesehatan, Republik Indonesia : Jakarta.
- Ermawati, D.E., Martodiharjo, S., Sulaiman, T.N.S., 2017. Optimasi komposisi emulgator formula emulsi air dalam minyak jus buah stroberi (*Fragaria vesca L.*) dengan metode simplex lattice design, 2(2): 78–89.
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., dan Singla, A.K., 2002. Spreading of semisolid formulations: An update. *Pharmaceutical technology*, 26: 84–105.
- Gössinger, M., Moritz, S., Hermes, M., Wendelin, S., Scherbichler, H., Halbwirth, H., dkk., 2009. Effects of processing parameters on colour stability of strawberry nectar from puree. *Journal of Food Engineering*, 90: 171–178.
- Häkkinen, S.H., Kärenlampi, S.O., Mykkänen, H.M., dan Törrönen, A.R., 2000. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2960–2965.
- Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H., Kimura, Y., Okuda, T., Hatano, T., dkk., 1987. Inhibitory Effects of Various Flavonoids Isolated from Leaves of Persimmon on Angiotensin-Converting Enzyme Activity. *Journal of Natural Products*, 50: 680–683.
- Kogan, A. dan Garti, N., 2006. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Advances in Colloid and Interface Science*, , Special Issue in Honor of Dr. K. L. Mittal 123–126: 369–385.
- Kubo, H., Fujii, K., Kawabe, T., Matsumoto, S., Kishida, H., dan Hosoe, K., 2008. Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 199–210.
- Kumpugdee-Vollrath, M., Subongkot, T., dan Ngawhirunpat, T., n.d. *Model Membrane from Shed Snake Skins*.
- Lachman, L., Lieberman, H., dan Kanig, J., 2007. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, I. Washington Square, Philadelphia, USA.
- Musa, K.H., Abdullah, A., Kuswandi, B., dan Hidayat, M.A., 2013. A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 141: 4102–4106.
- Naqvi, A.Z., Noori, S., dan Kabir-ud-Din, 2015. Tensiometric studies on the mixtures of nonionic Cremophor RH and cationic gemini surfactants. *Journal of Molecular Liquids*, 208: 137–144.
- Ngawhirunpat, T., Panomsuk, S., Opanasopit, P., Rojanarata, T., dan Hatanaka, T., 2006. Comparison of the percutaneous absorption of hydrophilic and lipophilic compounds in shed snake skin and human skin. *Die Pharmazie*, 61: 331–335.
- Palazolo, G.G., Sobral, P.A., dan Wagner, J.R., 2011. Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions prepared with native and thermally-denatured soybean isolates. *Food hydrocolloids*, 25: 398–409.
- Parveen, R., Baboota, S., Ali, J., Ahuja, A., Vasudev, S.S., dan Ahmad, S., 2011. Oil based nanocarrier for improved oral delivery of silymarin: In vitro and in vivo studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 413: 245–253.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Cook, W.G., dan Quinn, M.E., 2013. *Handbook of Pharmaceutical Excipients–7th Edition*. Taylor & Francis.
- Rozman, B., Gasperlin, M., Tinois-Tessoneaud, E., Piro, F., dan Falson, F., 2009. Simultaneous absorption of vitamins C and E from topical microemulsions using reconstructed human epidermis as a skin model. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72: 69–75.
- Sinko, J. M., 2013. *Buku Martin Farmasi Fisika & Ilmu Farmasetika Edisi 5 - Mabastore: Toko Buku Kedokteran*, 5th ed.
- Tsai, Y.-H., Lee, K.-F., Huang, Y.-B., Huang, C.-T., dan Wu, P.-C., 2010. In vitro permeation

- and in vivo whitening effect of topical hesperetin microemulsion delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, 388: 257-262.
- Wang, S.Y. dan Jiao, H., 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 5677-5684.
- Zhu, Q., Nakagawa, T., Kishikawa, A., Ohnuki, K., dan Shimizu, K., 2015. In vitro bioactivities and phytochemical profile of various parts of the strawberry (*Fragaria × ananassa* var. Amaou). *Journal of Functional Foods*, 13: 38-49.