

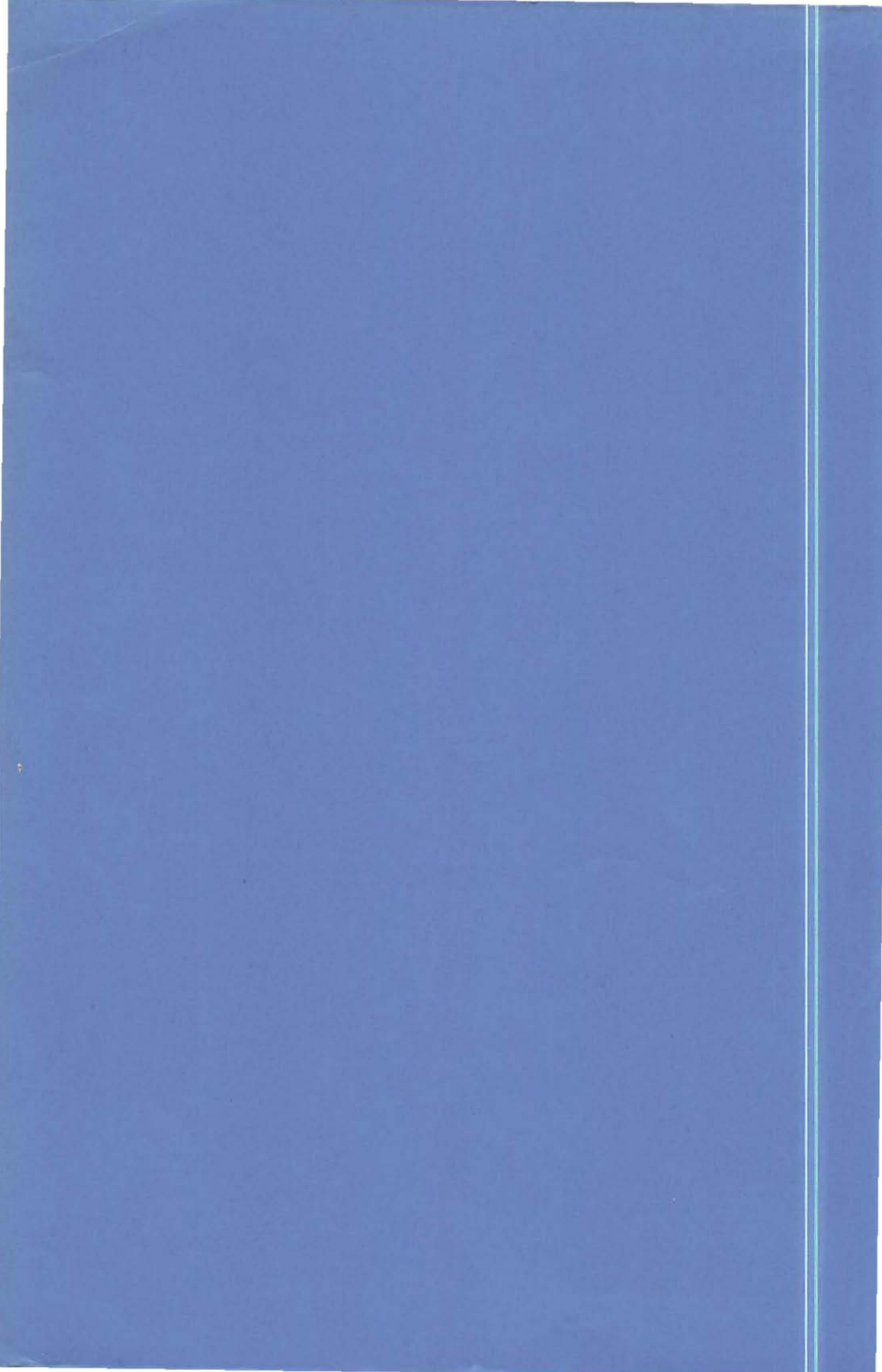
LAPORAN AKHIR
RISET INSENTIF TERAPAN

**Pemanfaatan Teknologi Phytosome
untuk meningkatkan bioavailabilitas
produk obat herbal**

Peneliti Utama : **Dr. Idha Kusumawati, S.Si., Apt, M.Si.**
N I P : 19700408 199512 2 001

ANGGOTA PENELITI : Helmy Yusuf, S.Si., Apt., M.Sc
: Eka Pramytha Hestianah, drh., M.Kes.

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga
Surabaya
2010



HERBAL

LAPORAN AKHIR
RISET INSENTIF TERAPAN

KK-2
KKB
LP-89/11
KUS
P

**Pemanfaatan Teknologi Phytosome
untuk meningkatkan bioavailabilitas
produk obat herbal**

Peneliti Utama : **Dr. Idha Kusumawati, S.Si., Apt, M.Si.**
NIP : 19700408 199512 2 001

ANGGOTA PENELITI : Helmy Yusuf, S.Si., Apt., M.Sc
: Eka Pramytha Hestianah, drh., M.Kes.

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga
Surabaya
2010



UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama kami panjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga penelitian ini dapat dikerjakan sampai sejauh ini berkat bantuan berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada :

- 1. Kementerian Riset dan Teknologi yang telah memberikan dana untuk penelitian ini**
- 2. Rektor dan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan segala fasilitas yang ada**
- 3. Seluruh instansi yang telah bekerjasama untuk menyelesaikan penelitian ini, ITS dan ITB**
- 4. Kepada semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam segala hal.**

Semoga penelitian ini bermanfaat bagi masyarakat dan kita semua dan semoga Allah meridhoinya. Amien ya Rabbal alamin.

Daftar Isi

WILIS
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

	hal
Halaman depan.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Ucapan terima kasih.....	iii
Daftar Isi.....	iv
Abstrak.....	vi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1. Latar belakang.....	1
2. Ruang lingkup dan batas-batas penelitian.....	5
3. Tujuan Penelitian.....	5
4. Manfaat Penelitian.....	5
5. Tahapan Penelitian.....	6
6. Perumusan Masalah.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Tinjauan tentang <i>Kaempferia galanga</i> Linn.....	8
2.1.1. Taksonomi dan Morfologi <i>Kaempferia galanga</i> Linn.....	8
2.1.2. Etnobotani <i>Kaempferia galanga</i> Linn.....	9
2.1.3. Kandungan kimia dalam <i>Kaempferia galanga</i> Linn.....	10
2.2. Tinjauan tentang Analgesik.....	10
2.3. Tinjauan tentang Phytosom.....	12
2.3.1. Pembuatan Phytosome	13
2.3.2. Sifat-sifat Phytosomes.....	15
2.3.2.1. Sifat kimia.....	15
2.3.2.2. Sifat Biologis.....	16
2.3.3. Karakterisasi Phytosome.....	16
2.3.4. Keuntungan dibandingkan sediaan konvensional.....	17
BAB 3 METODOLOGI.....	19
1. Bahan	19
2. Alat	19
3. Tahapan Penelitian.....	19

3.1. Tahap I.....	20
3.1.1. Standarisasi simplisia.....	20
3.1.2. Penyiapan Ekstrak, minyak atsiri dan Isolat EPMS dan APMS	20
3.1.3. Pembuatan sediaan dan karakterisasi sediaan phytosom dan liposom.....	20
3.1.4. Uji aktivitas analgesik.....	21
3.1.5. Uji toksisitas akut (LD ₅₀).....	22
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1. Pengumpulan bahan baku.....	23
4.2. Destilasi uap rimpang kencur segar.....	23
4.3. Standardisasi simplisia rimpang kencur.....	24
4.4. Tahap ekstraksi.....	24
4.5. Penentuan cemaran logam berat dalam ekstrak.....	25
4.6. Penentuan cemaran mikroba dalam ekstrak.....	25
4.7. Tahap isolasi EPMS.....	25
4.8. Tahap hidrolisis EPMS menjadi APMS	26
4.9. Tahap Penetapan kadar EPMS dalam ekstrak cair kencur.....	27
4.10. Pembuatan sediaan dan karakterisasi sediaan phytosom dan liposom.....	28
4.11. Uji Analgesik.....	35
4.11.1. Uji aktivitas analgesik oral dengan metode writhing test.....	35
4.11.2. Uji aktivitas analgesik topikal dengan metode writhing test.....	37
4.12. Uji Toksisitas akut (LD ₅₀).....	40
BAB 5 KESIMPULAN.....	42
PUSTAKA.....	43

Abstrak

Pengembangan obat herbal saat ini menjadi suatu fokus untuk mendapatkan bahan obat yang dapat digunakan untuk terapi berbagai macam penyakit. Studi mengenai kandungan kimia dan aktivitas farmakologi dari berbagai ekstrak tanaman dilakukan untuk mengetahui komposisi kimianya dan memastikan indikasi dari obat herbal. Kenyataan ilmiah membuktikan bahwa pemisahan dan pemurnian berbagai macam komponen dari ekstrak akan menyebabkan hilangnya sebagian aktivitas dari senyawa yang dimurnikan tersebut. Seringkali berbagai macam senyawa di dalam ekstrak berpadu untuk membentuk kompleks kimia yang sangat penting untuk bioavailabilitas dari senyawa tersebut. Untuk itu dikembangkan suatu teknologi yang disebut sebagai Phytosome untuk meningkatkan bioavailabilitas dari ekstrak dan produk herbal.

Sebagian besar senyawa aktif dari obat herbal merupakan senyawa dengan struktur yang besar sehingga menyebabkan rendahnya absorpsi senyawa-senyawa ini. Juga diketahui bahwa senyawa-senyawa aktif dalam herbal pada umumnya memiliki kelarutan yang rendah di dalam lemak. Untuk itu diperlukan suatu teknologi yang dapat meningkatkan absorpsi dan kelarutannya dalam lemak sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas senyawa-senyawa yang ada di dalam ekstrak atau produk herbal.

Teknologi Phytosome adalah suatu teknologi pembentukan kompleks antara senyawa-senyawa di dalam ekstrak dengan fosfolipid. Dengan teknologi phytosome, molekul hidrofilik senyawa menjadi hidrofobik sehingga dapat mempermudah proses penembusan lapisan membran bagian luar dari sel-sel dalam saluran pencernaan, sehingga dapat mudah masuk ke peredaran darah. Fosfolipid yang umum digunakan adalah fosfatidilkolin yang larut dalam fasa air dan lemak dan absorpsinya sangat baik bila diberikan secara oral. Analisis kimia menunjukkan bahwa unit phytosome biasanya terdiri dari satu molekul senyawa dalam herbal berikatan dengan setidaknya satu senyawa fosfatidilkolin. Ikatan kedua molekul ini sangat larut dalam lemak sehingga mudah menembus lapisan membran bagian luar sel-sel saluran pencernaan sehingga dapat masuk ke dalam peredaran darah. Dalam beberapa penelitian telah terbukti bahwa dengan menggunakan teknologi phytosome, produk dapat diabsorpsi dengan lebih baik dan mempunyai efikasi yang lebih tinggi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat produk herbal dengan menggunakan teknologi phytosome dan membuktikan secara ilmiah mempunyai efikasi dan safety yang lebih baik. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan landasan ilmiah tentang pengembangan produk bahan obat yang berasal dari tanaman khususnya yang berasal dari rimpang kencur dengan senyawa marker etilparametoksisinamat (EPMS), sehingga akan diperoleh produk yang mempunyai efikasi dan safety yang lebih baik, sebab teknologi phytosome dapat menjamin penghantaran senyawa-senyawa yang ada dalam produk sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas dari produk.

Tahapan penelitian tahun pertama adalah melakukan pembuatan ekstrak dengan berbagai macam pelarut dan membuat kompleks dengan fosfatidilkolin sehingga terbentuk suatu sediaan dengan teknologi phytosome. Kemudian melakukan pengujian bioaktivitas dan toksisitas akut dan subkronis untuk membuktikan bahwa teknologi phytosome ini terjamin efektifitas dan keamanannya, sehingga pada tahun pertama akan diperoleh suatu produk herbal terstandart (OHT) yang siap untuk diproduksi. Pada tahun kedua akan dilakukan pengukuran bioavailabilitas produk untuk membuktikan bahwa dengan teknologi phytosome mempunyai bioavailabilitas yang lebih baik.

Keyword : Kaempferia galangan, EPMS, Phytosome, bioavailabilitas, fosfolipid

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Kecenderungan masyarakat modern untuk kembali ke alam, telah mendorong peningkatan nilai perdagangan produk-produk obat herbal atau fitofarmaka. Indonesia adalah negara kedua terbesar keragaman hayatinya, tetapi pangsa pasarnya dalam perdagangan tanaman obat tertinggal jauh dengan Malaysia dan Thailand. Diperkirakan pada tahun 2010, pangsa obat tradisional domestik akan meningkat menjadi Rp 7,2 triliun dari Rp 2,0 triliun tahun 2003. Kecenderungan yang sama terjadi di pasar global. Di samping itu, nilai tambah rimpang menjadi simplisia mencapai 7 - 15 kali dan pengolahan menjadi ekstrak mencapai 80 - 280 kali [1]. Dari data tersebut sangat jelas bahwa pengolahan dan diversifikasi produk tanaman obat akan meningkatkan nilai jualnya. Pengembangan dari simplisia menjadi ekstrak terstandart, lalu menjadi fraksi aktif bahkan pada isolat senyawa aktif yang kemudian dengan teknologi terbaru menjadi suatu produk yang disebut "*phytosome*" atau "liposom" tentunya akan lebih meningkatkan nilai jual dari produk tanaman obat. Dan apabila Indonesia juga mampu menyediakan ekstrak dalam bentuk *phytosome*/liposom, yang dilandasi bukti ilmiah, tentunya akan dapat menjadi salah satu negara penyedia bahan baku obat herbal yang sejajar dengan India dan China sehingga meningkatkan nilai ekspor negara.

Phytosome merupakan bentuk produk tanaman obat terbaru yang dapat diabsorpsi lebih baik dan lebih berkhasiat dibandingkan ekstrak tanaman obat yang

konvensional. Dalam bentuk phytosome, kandungan bahan aktif tanaman diselubungi oleh phospholipida alami seperti soy phospholipida, sehingga kandungan bahan aktif dalam ekstrak tanaman dapat terlindungi dari kerusakan oleh sekresi pencernaan dan bakteri dalam usus. Phytosome dapat bertransisi dari lingkungan yang hidrofilik ke dalam lingkungan yang lebih hidrofobik dari membrane sel, kemudian akan masuk ke dalam aliran darah [2].

Penelitian tentang Phytosome telah membuktikan bahwa phytosome diabsorpsi dengan lebih baik di saluran pencernaan dan memberikan efek klinis yang lebih baik pula. Teknologi ini merupakan terobosan baru untuk meningkatkan bioavailabilitas dan efek klinisnya karena mampu menjamin bahan aktif sampai ke jaringan [3].

Penelitian tentang phytosome telah berhasil dilakukan untuk ekstrak tanaman seperti *Silybum marianum*, *Ginkgo biloba*, *Panax ginseng* [3, 4], untuk itu dalam penelitian ini akan diterapkan pembuatan phytosome untuk ekstrak kencur (*Kaempferia galanga*), sebab kencur merupakan salah satu dari empat tanaman obat yang paling banyak dipakai di Industri Obat Tradisional sehingga keberhasilan penelitian ini akan dapat meningkatkan nilai jual dari tanaman ini, sekaligus dapat memperbesar peluang untuk mendapatkan paten riset (HAKI) sebab penerapan teknologi ini pada tanaman obat Indonesia merupakan hal yang baru. Kencur juga merupakan tanaman dari famili Zingiberaceae yang sangat mudah dibudidayakan sehingga keberhasilan penelitian ini tentu akan dapat meningkatkan komoditas pertanian dari tanaman ini [1].

Rimpang kencur yang mengandung minyak atsiri banyak digunakan untuk expectorant, headache, toothache, abdominal pain, carminative, rheumatism dan

tonics. Lotion atau liniment-nya banyak digunakan untuk swelling dan muscular rheumatism [5,6,7]. Ekstrak etanol kencur juga mampu menurunkan aktivitas motorik dan kecepatan pernafasan serta menunjukkan aktivitas analgesik, hal ini menunjukkan aktivitasnya sebagai CNS depresan [8].

Kandungan kimia yang ada pada rimpang kencur adalah cineol, borneol, 3-carene, camphene, kaempherol, kaempferide, cinnamaldehyde, p-methoxycinaamic acid, ethyl cinamate dan ethyl p-methoxycinnamate [9].

Pada uji toksisitas akut, penggunaan oral dengan dosis 5 g/kg ekstrak rimpang kencur tidak menunjukkan kematian dan juga tidak menunjukkan perbedaan pada berat badan, berat organ, perubahan histopatologis pada hewan coba control dan yang diberi perlakuan. Pada uji toksisitas sub akut, ekstrak ethanol rimpang kencur dengan dosis 25, 50 or 100 mg/kg yang diberikan secara oral selama 28 hari, tidak menunjukkan perbedaan dengan control pada berat badan, berat organ, analisa hematologi dengan parameter WBC count, platelet, hematocrit dan hemoglobin estimation, kimia darah dengan parameter glucose, creatinine, blood urea nitrogen (BUN), aspartate transami-nase (AST), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (Alk-P), total protein and albumin, perubahan histopatologi. Pada pengujian dermal irritation test yang telah dilakukan, ekstrak kencur tidak menimbulkan iritasi [8].

Pada penelitian yang telah dilakukan ekstrak etanol 50% kencur menunjukkan aktivitas analgesik, dengan metode writhing test, yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol 70% atau ekstrak etanol 96% dan ekstrak air dengan kadar EPMS yang setara [10].

Pemanfaatan teknologi phytosome secara nyata telah dibuktikan pada berbagai ekstrak herbal dapat meningkatkan bioavailabilitas senyawa-senyawa yang ada di dalam ekstrak, menjamin penghantaran senyawa-senyawa tersebut sehingga dapat lebih menjamin efektifitasnya. Sampai saat ini teknologi phytosome banyak diterapkan untuk senyawa-senyawa berjenis flavonoid, namun untuk itu penelitian ini akan dilakukan pada rimpang kencur dengan senyawa markernya etil para metoksi sinamat (EPMS) yang juga mempunyai sifat-sifat yang hampir sama dengan flavonoid yaitu sulit diabsorpsi sehingga bioavailabilitasnya menjadi rendah dan efektifitasnya pun tidak menentu. Diharapkan dengan penerapan teknologi phytosome ini dapat meningkatkan bioavailabilitas sehingga akhirnya dapat meningkatkan efektifitas penggunaannya. Teknologi phytosom ini sangat tepat untuk pembuatan sediaan oral sedangkan untuk pembuatan sediaan topical dalam bentuk yang hampir sama dibuat dengan teknologi liposom, mengingat APMS yang merupakan hasil hidrolisis dari EPMS merupakan senyawa aktif yang mempunyai potensi untuk dikembangkan juga dalam bentuk sediaan analgesic-antiinflamasi topical.

Dengan melihat data-data ilmiah penelitian yang telah ada, maka sangatlah prospektif apabila ekstrak kencur yang dibuat dengan teknologi phytosom dijadikan Obat Herbal Terstandar, khususnya sebagai analgesic oral, baik tunggal maupun ditambahkan ke dalam formula obat herbal yang memerlukan analgesic. Sedangkan dalam bentuk sediaan Liposom akan sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sediaan analgesic topical. Obat Herbal Terstandar adalah obat yang berbahan baku ekstrak terstandar (terjamin keajegannya) yang telah dibuktikan efektifitas dan safety-nya pada tingkat praklinik. Sehingga pada akhir

penelitian ini dapat diperoleh suatu produk yang siap diproduksi oleh Industri Obat.

1.2. Ruang lingkup dan batas-batas penelitian

Pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan ekstrak terstandart dengan teknologi phytosome dan liposom yang terjamin kualitasnya yang dilihat dari parameter kandungan senyawa marker dan profil metabolitnya, pembuktian keberhasilan penerapan teknologi fitosom, pengujian aktivitas analgesic dari produk phytosome dan liposom sebagai jaminan efektifitas dan pengujian toksisitas akut sebagai jaminan safety/keamanan penggunaannya.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat sediaan Obat Herbal Terstandart dari ekstrak phytosome rimpang kencur dan ekstrak liposom sebagai analgesik dengan melakukan serangkaian proses formulasi, kontrol kualitas pengujian preklinik (efektifitas dan safety).

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan memberikan landasan ilmiah tentang pengembangan produk obat herbal terstandart dari rimpang kencur dengan menggunakan teknologi Phytosome untuk pemakaian tunggal sebagai analgesik maupun campuran dengan tanaman lain untuk efek terapi yang memerlukan analgesik, sehingga siap untuk diproduksi oleh Industri dan dilanjutkan pada pengujian tingkat klinik.

1.5. Tahapan Penelitian

Pada tahun pertama akan dilakukan formulasi ekstrak dengan teknologi phytosome dan pembuktian keberhasilan teknologi phytosome dan liposom dengan X-ray detection, Electron microscope (SEM dan TEM), DTA dan FTIR. Dilakukan kontrol kualitas berdasarkan kadar senyawa marker EPMS dan profil metabolit, ditentukan parameter standart ekstrak meliputi kadar air, kadar minyak atsiri, kadar abu, kadar sisa pelarut pengekstraksi, kadar logam berat, kadar pestisida, kadar cemaran mikroba. Pengujian aktivitas analgesik dilakukan dengan menggunakan writhing test untuk sediaan phytosom dan pengujian analgesik topikal untuk sediaan liposom. Pengujian toksisitas akut dengan parameter LD50 dan tanda-tanda fisik.

Pada tahun kedua akan dilakukan formulasi ekstrak phytosom terpilih menjadi produk analgesik oral dan ekstrak liposom terpilih menjadi sediaan analgesik topikal kemudian akan dilakukan pengujian bioavailabilitas produk phytosome dan liposom yang dihasilkan.

1.6. Perumusan Masalah

Dari uraian tersebut di atas maka rumusan permasalahannya adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak rimpang kencur, minyak atsiri kencur, EPMS dan APMS dapat dibuat sediaan dalam bentuk phytosome ?
2. Manakah produk phytosome dari ekstrak rimpang kencur, minyak atsiri kencur, EPMS dan APMS yang mempunyai aktivitas analgesik terbaik berdasarkan metode writhing test ?

3. Apakah ekstrak rimpang kencur, minyak atsiri kencur, EPMS dan APMS dapat dibuat sediaan dalam bentuk liposom ?
4. Manakah produk liposome dari ekstrak rimpang kencur, minyak atsiri kencur, EPMS dan APMS yang mempunyai aktivitas analgesik topikal terbaik berdasarkan metode writhing test ?
5. Apakah produk phytosome dan liposom yang terpilih aman untuk digunakan berdasarkan parameter toksisitas akut ?
6. Bagaimana formulasi ekstrak phytosom terpilih menjadi sediaan analgesik oral ?
7. Bagaimana formulasi ekstrak liposom terpilih menjadi sediaan analgesik topikal ?
8. Apakah ada perbedaan bioavailabilitas ekstrak kencur dengan produk phytosome/liposom-nya ?

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang *Kaempferia galanga* Linn

2.1.1. Taksonomi dan Morfologi *Kaempferia galanga* Linn

Kingdom: Plantae

(unranked): Angiosperms

(unranked): Monocots

(unranked): Commelinids

Order: Zingiberales

Family: Zingiberaceae

Subfamily: Zingiberoideae

Tribe: Kaempferia

Genus: *Kaempferia*

Species: *K. galanga*

Kencur (*Kaempferia galanga* L.) adalah salah satu jenis empon-empon/tanaman obat yang tergolong dalam suku temu-temuan (Zingiberaceae). Rimpang atau rizoma tanaman ini mengandung minyak atsiri dan alkaloid yang dimanfaatkan sebagai stimulan. Nama lainnya adalah cekur (Malaysia) dan pro hom (Thailand). Dalam pustaka internasional (bahasa Inggris) kerap terjadi kekacauan dengan menyebut kencur sebagai lesser galangal (*Alpinia officinarum*) maupun zedoary (temu putih), yang sebetulnya spesies yang berbeda dan bukan merupakan rempah pengganti. Terdapat pula kerabat dekat kencur yang biasa ditanam di pekarangan sebagai tanaman obat, temu rapet (*K. rotunda* Jacq.), namun mudah dibedakan dari

daunnya.

Kencur merupakan temu kecil yang tumbuh subur di daerah dataran rendah atau pegunungan yang tanahnya gembur dan tidak terlalu banyak air. Jumlah helaian daun kencur tidak lebih dari 2-3 lembar dengan susunan berhadapan. Bunganya tersusun setengah duduk dengan mahkota bunga berjumlah antara 4 sampai 12 buah, bibir bunga berwarna lembayung dengan warna putih lebih dominan. Tumbuhan ini tumbuh baik pada musim penghujan. Kencur dapat ditanam dalam pot atau di kebun yang cukup sinar matahari, tidak terlalu basah dan di tempat terbuka.

2.1.2. Etnobotani *Kaempferia galanga* Linn

Kencur (nama bahasa Jawa dan bahasa Indonesia) dikenal di berbagai tempat dengan nama yang berbeda-beda: *cikur* (bahasa Sunda); *ceuko* (bahasa Aceh); *kaciwer* (bahasa Karo); *kencor* (Madura); *cekuh* (bahasa Bali); *kencur*, *sukung* (bahasa Melayu Manado); *asauli*, *sauleh*, *soul*, *umpa* (bahasa-bahasa di Maluku); serta *cekir* (Sumba).

Berbagai masakan tradisional Indonesia dan jamu menggunakan kencur sebagai bagian resepnya. Kencur dipakai orang sebagai tonikum dengan khasiat menambah nafsu makan sehingga sering diberikan kepada anak-anak. Jamu beras kencur sangat populer sebagai minuman penyegar pula. Di Bali, urap dibuat dengan menggunakan daun kencur

2.1.3. Kandungan kimia dalam *Kaempferia galanga* Linn

Rimpang Kencur mengandung pati (4,14 %), mineral (13,73 %), dan minyak atsiri (0,02 %) berupa sineol, asam metil kanil dan penta dekaan, asam cinnamic, ethyl aster, asam sinamic, borneol, kamphene, paracumarin, asam anisic, alkaloid dan gom.

2.2. Tinjauan tentang Analgesik

Analgesik ialah istilah yang digunakan untuk mewakili sekelompok obat yang digunakan sebagai penahan sakit. Obat analgesik termasuk obatan antiradang non-steroid (NSAID) seperti salisilat, obat narkotika seperti morfin dan obat sintesis bersifat narkotik seperti tramadol.

NSAID seperti aspirin, naproksen, dan ibuprofen bukan saja melegakan sakit, malah obat ini juga bisa mengurangi demam dan kepanasan. Analgesik bersifat narkotik seperti opioid dan opidium bisa menekan sistem saraf utama dan mengubah persepsi terhadap kesakitan (noisepsi). Obat jenis ini lebih berkesan mengurangi rasa sakit dibandingkan NSAID.

Analgesik seringkali digunakan secara gabungan serentak, misalnya bersama parasetamol dan kodein dijumpai di dalam obat penahan sakit (tanpa resep). Gabungan obat ini juga turut dijumpai bersama obat pemvasocerut seperti pseudoefedrin untuk obat sinus, atau obat antihistamin untuk alergi.

Analgesik adalah golongan obat yang dapat menghilangkan rasa nyeri seperti nyeri kepala, gigi, dan sendi. Obat golongan analgesik umumnya juga mempunyai efek antipiretik, yakni mampu menurunkan suhu tubuh, sehingga

biasa disebut obat golongan analgesik-antiperitik, seperti aspirin, parasetamol, dan antalgin.

Analgesik-antiperitik biasanya digunakan untuk mengobati penyakit dengan gejala demam (suhu tubuh meningkat) dan nyeri, seperti influenza dan salesma. Karena mempunyai efek samping yang ringan, obat golongan analgesik-antiperitik dijual bebas di pasaran.

Obat golongan ini mampu menurunkan panas (antiperitik) karena menormalkan pusat pengatur suhu yang terletak di batang otak. Selain itu mampu melebarkan pembuluh darah kulit dan memperbanyak keringat sehingga semakin banyak panas yang dibuang. Selain bekerja di susunan syaraf pusat, analgesik-antiperitik dapat mencegah pembentukan prostaglandin, yakni zat yang menimbulkan rasa nyeri dan panas.

Analgesik-antiperitik terdiri dari empat golongan, yakni salisilat, asetaminofen, piralozon, dan golongan asam (asam-mefenamat). Salisilat di pasaran dikenal sebagai aspirin. Dalam dosis tinggi, aspirin mempunyai khasiat antiradang sehingga sering digunakan untuk mengobati radang sendi (rematik).

Obat ini juga bersifat mengurangi daya ikat sel-sel pembeku darah sehingga penting untuk segera diberikan pada penderita angina (serangan jantung), untuk mencegah penyumbatan pembuluh darah jantung karena penggumpalan/pembekuan darah. Aspirin dapat menimbulkan nyeri dan perdarahan lambung, karena itu sebaiknya dikonsumsi setelah makan. Dosis yang berlebihan dapat menyebabkan telinga berdenging, tuli, penglihatan kabur, bahkan kematian.

Asetaminofen di pasaran dikenal sebagai parasetamol. Obat ini mempunyai khasiat antiradang yang jauh lebih lemah dari aspirin sehingga tidak bisa digunakan untuk mengobati rematik. Asetaminofen tidak merangsang lambung sehingga dapat digunakan oleh penderita sakit lambung. Sementara piralozon, antara lain antalgin, neuralgin, dan novalgin, amat manjur sebagai penurun panas dan penghilang rasa nyeri. Piralozon dapat menimbulkan efek berbahaya yakni agranulositosis (berkurangnya darah putih), karena itu dilarang dijual bebas di Indonesia.

2.3. Tinjauan tentang Phytosom

Phytosome terbentuk apabila ekstrak terstandard dan senyawa aktif dalam herbal berikatan dengan phospholipid pada tingkat molekular. Struktur phytosome terdiri dari senyawa aktif tanaman yang diselubungi oleh phospholipid.

Struktur molekular phospholipid meliputi bagian “kepala” yang larut dalam air dan dua bagian “ekor” yang larut dalam lemak, dan karena sifatnya yang amphiphatic ini phospholipid dapat menjadi emulsifier yang baik. Selain itu, phospholipid juga merupakan salah satu komponen utama membran sel. Phytosome merupakan bentuk produk bahan alam terbaru yang dapat diabsorpsi lebih baik dan lebih berkhasiat dibandingkan ekstrak bahan alam konvensional.

Sediaan bahan alam merupakan obat yang populer sejak zaman kuno dan sampai sekarang penggunaan phytomedicine masih terus berlanjut di seluruh dunia. Dalam abad terakhir, studi tentang aspek kimia dan farmakologi telah dilakukan pada banyak ekstrak tanaman untuk mengetahui komposisi kimianya dan mengetahui indikasi dari obat-obat tradisional. Pembuatan phytosome

memungkinkan kandungan bahan aktif dalam ekstrak tanaman dapat terlindungi dari kerusakan oleh sekresi pencernaan dan bakteri dalam usus. Phytosomes dapat bertransisi dari lingkungan yang hidrofilik ke dalam lingkungan yang lebih hidrofobik dari membran sel, kemudian akan masuk ke dalam sel itu sendiri dan pada akhirnya masuk ke dalam aliran darah [1]. Konstituen bioaktif dari phytomedicine pada umumnya adalah flavonoid (misalnya anthocyanidin, catechin, silymarin). Tetapi, banyak dari flavonoid tersebut sangat sukar diabsorpsi. Absorpsi yang rendah tersebut, kemungkinan disebabkan oleh dua faktor. Pertama, flavonoid memiliki molekul cincin yang banyak, sehingga terlalu besar untuk diabsorpsi secara difusi. Kedua, molekul flavonoid secara umum sukar larut dalam minyak dan lipid, dimana membatasi kemampuannya untuk melewati membran sel usus. Molekul flavonoid yang larut dalam air dapat diubah menjadi kompleks molekul yang bisa campur dengan lipid yang dikenal dengan Phytosome. Fase lipid yang digunakan adalah phospholipid dari kedelai, terutama phosphatidylcholine (PC). Phosphatidylcholine berupa susunan molekul yang teratur seperti membran sel yang bisa campur baik dengan air maupun minyak dan diabsorpsi dengan baik apabila diberikan secara oral. Analisis kimiawi mengindikasikan bahwa dalam phytosome pada umumnya flavonoid berikatan dengan setidaknya satu molekul phosphatidylcholine. Ikatan yang terbentuk antara dua molekul tersebut membentuk molekul hibrid. Ikatan hibrid tersebut bersifat sangat mudah campur dengan lipid dan sangat sesuai bila bercampur dengan fase lipid dari membrane sel. Phosphatidylcholine tidak sekedar berfungsi sebagai carrier yang pasif bagi flavonoid dalam phytosome, tetapi juga bersifat bioaktif yang juga memiliki efek klinis terutama untuk penyakit liver seperti *alcoholic*

hepatic stosis, obat-obat yang menginduksi kerusakan hati, dan juga hepatitis. Phytosome telah banyak digunakan pada ekstrak-ekstrak tanaman seperti Ginkgo biloba, green tea, ginseng, milk thistle, dll. Komponen flavonoid dan terpenoid dari ekstrak tanaman sangat mudah berikatan dengan phosphatidylcholine. Terutama, bagian molekul choline yang akan berikatan dengan senyawa-senyawa tersebut, sementara bagian phosphatidyl yang larut dalam lemak kemudian akan menutupi senyawa yang telah berikatan dengan choline tersebut [2]. Phytosomes mampu memperbaiki parameter farmakokinetik dan farmakologi dimana dapat memberikan keuntungan bila digunakan pada terapi penyakit liver akut dan kronis, penyakit infeksi dan degeneratif. Bisa juga digunakan dalam pengobatan untuk antiinflamasi dan juga kosmetika [2].

2.3.1. Pembuatan Phytosome

Phytosomes merupakan kompleks yang dibuat dengan mereaksikan 2 – 3 mol (tapi lebih diinginkan 1 mol) phospholipid (misalnya phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine atau phosphatidyserine) dengan 1 mol komponen aktif bahan alam (misalnya flavolignanans, baik senyawa tunggal atau dalam campuran) dalam pelarut dioksan atau aseton dimana kompleks diperoleh dengan presipitasi dengan penggunaan nonsolvent seperti hidrokarbon alifatis atau lyofilisasi atau spray drying. Dalam pembentukan kompleks phytosome, rasio antara dua senyawa tersebut berkisar 0,5-2,0 mol. Tetapi, yang paling ideal rasio phospholipid dan flavonoid adalah 1:1 [3].

Dalam pembuatan phytosome, phospholipid dipilih dari soy lecithin, sapi, atau otak babi atau dermis, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine,

phosphatidylserine dimana gugus asil bisa sama atau berbeda dan pada umumnya diperoleh dari palmitat, stearat, oleat, dan asam linoleat. Sedangkan pemilihan flavonoid dari kelompok yang terdiri dari quercetin, kaempferol, quercetin-3, rhamnoglucoside, quercetin-3-rhamnoside, hyperoside, vitexine, diosmine, 3-rhamnoside, (+) catechin, (-) epicatechin, apigenin-7-glucoside, luteolin, luteolinglucoside, ginkgonetine, isoginkgonetine and bilobetine. Bahan awal, misalnya flavonoid tidak larut dalam chloroform, ethyl ether atau benzene. Flavonoid kemudian menjadi sangat larut dalam pelarut-pelarut tersebut setelah berbentuk phytosome. Sifat fisika-kimia yang berubah kemungkinan disebabkan terbentuknya kompleks yang stabil [4].

2.3.2. Sifat-sifat Phytosomes

2.3.2.1. Sifat kimia

Phytosomes merupakan kompleks antara bahan alam dan phospholipid alami, seperti soy phospholipids. Kompleks tersebut, diperoleh dengan mereaksikan secara stoikiometri jumlah phospholipid dan ekstrak dalam pelarut yang sesuai. Berdasarkan data spektroskopis menunjukkan bahwa interaksi antara phospholipid dan senyawa dalam ekstrak adalah ikatan hidrogen antara bagian polar phospholipid (yaitu gugus phosphate, dan ammonium) dan gugus polar dari senyawa aktif. Apabila dilarutkan dalam air, maka phytosome akan membentuk misel dan struktur mirip liposom. Bila pada liposom bahan aktif terlarut dalam bagian dalam yang diselubungi membran, sementara pada phytosome bahan aktif tertanam pada lapisan polar phospholipid dan menjadi bagian integral dari membran. Sebagai contoh adalah kompleks catechin distearoyl

phosphatidylcholine, dimana pembentukan ikatan hidrogen terjadi antara hidroksil fenolik dari senyawa flavon dan ion fosfat pada phosphatidylcholine. Kesimpulan ini berdasarkan data NMR dari kompleks phospholipid dibandingkan dengan prekursornya. Sinyal asam lemak hampir tidak berubah yang menunjukkan dua rantai alifatik menyelubungi senyawa aktif membentuk selubung lipofilik yang melindungi gugus polar phospholipid dan cathecin [5].

2.3.2.2.Sifat Biologis

Phytosome merupakan bentuk terbaru dari produk bahan alam yang dapat diabsorpsi lebih baik, lebih mudah penggunaannya dan secara umum lebih baik dari produk bahan alam konvensional. Peningkatan bioavailabilitas phytosome dibandingkan ekstrak nonkompleks ditunjukkan oleh parameter farmakokinetik atau farmakodinamik yang telah diteliti pada binatang coba dan juga pada manusia [6].

2.3.3.Karakterisasi Phytosome

Sifat-sifat phytosome dalam sistemnya baik secara fisik dan biologi ditentukan oleh faktor-faktor seperti ukuran partikel, permeabilitas membran, persentase bahan aktif yang terjebak, komposisi, jumlah dan kemurnian bahan baku. Oleh karena itu, phytosome dikarakterisasi berdasarkan faktor di atas yaitu bentuk, ukuran, distribusi, persen obat yang terjebak, persentase pelepasan obat dan komposisi kimia [7].

Mencampur senyawa larut air dengan phosphatidylcholine akan membentuk liposom. Tidak ada ikatan kimia yang terbentuk, dan bisa ada ratusan atau bahkan

ribuan molekul phosphatidylcholine yang mengelilingi senyawa yang larut air tersebut. Sebaliknya, phytosome membentuk kompleks dengan senyawa aktif tunggal dari komponen tanaman pada perbandingan mol 1:1 atau 2:1 tergantung dari jenis senyawa [8]. Phytosome bukan liposom – secara struktur, keduanya bisa dibedakan seperti pada gambar 1. Penelitian tentang phytosome telah membuktikan bahwa phytosome diabsorpsi lebih baik dalam saluran pencernaan dan memberikan efek klinis yang lebih baik pula. Beberapa industri farmasi telah menggunakan teknologi ini pada sejumlah sediaan flavonoid terstandar. Teknologi phytosome merupakan sebuah model terobosan baru untuk [9] :

- Peningkatan bioavailabilitas
- Keuntungan klinis yang lebih besar
- Menjamin bahan aktif sampai ke jaringan
- Lebih aman

2.3.4.Keuntungan dibandingkan sediaan konvensional

Beberapa keuntungan dari phytosome adalah:

- Phytosome lebih baik dalam hal bioavailabilitas dari ekstrak tanaman, karena berupa kompleks phospholipid dan lebih cepat diserap pada intestinal [10].
- Phytosome dapat meningkatkan permeabilitas ekstrak tanaman sehingga dapat diserap lebih baik pada lumen usus [11].
- Phytosome diberikan dalam jumlah kecil tetapi efek terapi tetap tercapai.
- Phytosome digunakan secara luas pada sediaan kosmetika karena efek penetrasinya pada kulit yang lebih baik

- Phytosome telah digunakan untuk liver protectant (flavonoid) karena sangat bioavailable

Phytosomes merupakan kompleks senyawa flavonoid dengan phospholipid, dengan karakteristik sangat lipofilik dan bioavailabilitas yang lebih baik sehingga mampu meningkatkan efek terapeutik dibandingkan dengan senyawa flavonoid tunggal (nonkompleks). Phytosome dibuat dengan metode yang telah dipatenkan dimana senyawa tunggal dari komponen ekstrak seperti flavonoid dan terpenoid terikat pada phospholipid seperti phosphatidylcholine melalui ujung rantai yang bersifat polar. Phytosomes juga disebut sebagai sistem penghantar phytolipids. Merupakan bentuk terbaru dari produk sediaan ekstrak bahan alam yang diabsorpsi lebih baik dibandingkan dengan sediaan bahan alam konvensional. Phytosomes mampu meningkatkan parameter farmakokinetik dan farmakologi, dimana bisa diberikan untuk penyakit liver akut, penyakit metabolik lain dan infeksi.

Phytosomes merupakan kompleks lipofilik dari berbagai komponen tanaman seperti Silybum Marianum, Ginkgo Biloba, ginseng, dll dengan phospholipids. Sediaan phytosome dibuat dengan metode nonkonvensional. Absorpsi phytosome dalam saluran pencernaan lebih baik dan menghasilkan kadar dalam plasma yang lebih tinggi dibandingkan bila diberikan dalam bentuk komponen senyawa tunggalnya. Rasio pembentukan antara komponen senyawa dan phospholipids adalah 1:1 dan 2:1. Phytosomes telah banyak digunakan dalam kosmetologi. Phytosomes merupakan jembatan antara sistem conventional delivery system dan novel delivery system.

BAB 3

METODOLOGI

1. Bahan

Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) diperoleh dari Mojokerto , Jawa Timur.

2. Alat

Densitometer, Xray, microscop electron, DTA, FT-IR

3. Tahapan Penelitian

3.1. Tahun I.

3.1.1. Standarisasi simplisia

- a. Standarisasi simplisia rimpang kencur digunakan metode Materia Medika Indonesia, Dep Kes RI yang meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis simplisia, penetapan kadar abu, penetapan kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut dalam etanol , penetapan kadar air , penetapan susut pengeringan .
- b. Penetapan kadar senyawa marker EPMS dari simplisia rimpang kencur. Metode penetapan kadar dilakukan dengan metode KLT- densitometri , untuk memperoleh data pengukuran yang valid maka perlu dilakukan : (1) penentuan selektifitas pelarut (2) Penentuan panjang gelombang maksimum (3) Linieritas (4) Homogenitas (5) Penentuan batas deteksi (LOD) batas kuantitasi (LOQ) (6) Akurasi dan (7) Presisi.

- c. Pengukuran cemaran pestisida, pengukuran residu pelarut, pengukuran cemaran logam berat dilakukan dengan metode AAS, sedangkan untuk cemaran mikroba ditentukan dengan metode mikrobiologi.

3.1.2. Penyiapan Ekstrak, minyak atsiri dan Isolat EPMS dan APMS

a. Ekstraksi Serbuk Kencur

Serbuk kering simplisia diekstraksi dengan etanol (96%) dengan metode maserasi, secara terpisah. Ekstrak etanol cair diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Sehingga diperoleh ekstrak etanol kencur.

b. Destilasi serbuk kencur

Untuk memperoleh minyak atsiri kencur dilakukan dengan metode destilasi uap air.

c. Isolasi EPMS

Isolasi EPMS dilakukan dengan teknologi pengendapan dari ekstrak kental yang diperoleh pada (a). Kemudian dilakukan pemurnian kristal yang terbentuk.

d. Isolasi APMS

Isolasi APMS dilakukan dengan cara menghidrolisis EPMS kemudian dilakukan pemurnian kristal yang terbentuk.

3.1.3. Pembuatan sediaan dan karakterisasi sediaan phytosom dan liposom

a. phytosom

Campuran ekstrak : fosfolipid (1:10) dilarutkan dalam methanol. Lapisan film tipis akan terbentuk selama proses pengeringan pelarut dan penyimpanan dalam eksikator selama 24 jam. Kemudian ditambahkan PBS dan didiamkan selama 1 jam, setelah itu disonifikasi selama 30 detik.

b. liposom

Campuran ekstrak : fosfolipid : kolesterol (1:10:10) dilarutkan dalam methanol. Lapisan film tipis akan terbentuk selama proses pengeringan pelarut dan penyimpanan dalam eksikator selama 24 jam, setelah itu disonifikasi selama 30 detik dan dilakukan pengeringan dengan freezed dryer.

Karakterisasi pembentukan phytosom/liposom dilakukan dengan Xray, SEM, TEM, DTA dan FTIR.

3.1.4. Uji aktivitas analgesik

a. Writhing test dengan pemberian peroral

tiga dosis produk phytosome kencur, kontrol negatif, dan aspirin diberikan secara oral pada masing-masing mencit 30 menit sebelum induksi asam asetat glasial 6% ip. Sepuluh menit kemudian geliatan dihitung selama 30 menit

b. Writhing test dengan pemberian topikal

tiga dosis produk liposome kencur, kontrol negatif, dan aspirin diberikan secara topikal di bagian perut setelah bulunya dicukur pada masing-masing mencit 30

menit sebelum induksi asam asetat glasial 6% ip. Sepuluh menit kemudian geliatan dihitung selama 30 menit

3.1.5. Uji toksisitas akut (LD_{50}).

Digunakan 4 kelompok percobaan dan tiap kelompok digunakan 10 ekor mencit betina dan 10 ekor mencit jantan, kemudian diberikan secara peroral sediaan phytosom kencur dengan dosis awal yang digunakan relatif tidak berbahaya, kemudian diamati jumlah mencit yang mati. Dari hasil tersebut dosis dinaik / turunkan untuk mendapatkan dosis yang membunuh mencit kurang dari 50% tetapi tidak 0%, dan membunuh lebih dari 50% tetapi tidak 100% (Gosh,1971). Pengamatan tanda-tanda keracunan dilakukan 4 jam setelah pemberian bahan uji dan total jumlah hewan yang mati, diamati dalam waktu 24 jam setelah pemberian bahan uji. Analisis data yang diperoleh dalam penelitian ini diolah dengan *Probit Analysis*, untuk menentukan harga LD_{50} .

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengumpulan bahan baku

Bahan baku rimpang kencur segar berumur 8 bulan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari BPTO Tawangmangu Solo sebanyak 50 kg. Berdasarkan penentuan kadar EPMS sebagai senyawa marker mencapai puncak pada saat kencur berumur 8 bulan. Setelah itu dicuci bersih dari kotoran fisik kemudian ditiriskan sampai kering, dilakukan pembagian, 15 kg rimpang segar digunakan untuk pembuatan minyak atsiri dengan metode destilasi uap. Sisanya 35 kg dibuat menjadi simplisia. Tahapan pembuatan simplisia diawali dengan tahap perajangan. Rimpang kencur dirajang dengan ketebalan 0,3 – 0,5 cm. Ketebalan ini merupakan ketebalan yang optimal sebab kalau terlalu tipis maka akan banyak minyak atsiri yang hilang dan kalau terlalu tebal akan sulit kering dan mudah berjamur. Kemudian dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 37°C, suhu ini dapat menghentikan kerja enzim dan tidak menyebabkan menguapnya minyak atsiri yang terkandung di dalam rimpang kencur.

4.2. Destilasi uap rimpang kencur segar

Rimpang kencur segar sebanyak 15 kg setelah dicuci bersih, ditiriskan, ditimbang lagi kemudian dirajang dengan ketebalan 3 – 5 mm kemudian dimasukkan kedalam alat destilasi dan dilakukan destilasi selama 6 jam. Minyak atsiri yang ditampung dipisahkan dari airnya dengan menggunakan heksana.

Kemudian heksana diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. **Rendemen minyak atsiri adalah 12,3 %.**

4.3. Standardisasi simplisia rimpang kencur

Sesuai dengan monografi herbal dilakukan penentuan beberapa parameter sebagai berikut :

Kadar abu : 5,78 %

Kadar abu yang tidak larut asam : 1,8 %

Kadar sari larut air : 17,67 %

Kadar sari larut dalam etanol : 6,76 %

Kadar minyak atsiri : 2,9 %

4.4. Tahap ekstraksi

Serbuk kering simplisia rimpang kencur sebanyak 15 kg diekstraksi dengan etanol (96%) sebanyak 10 kali bahan dengan metode maserasi 3 kali. Ekstrak etanol cair diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak cair 15 liter. Ekstrak cair sebanyak 5 liter dipekatkan sampai diperoleh ekstrak kental. **Rendemen ekstrak sebanyak 14,7 %**, sedangkan sisanya dimasukkan wadah tertutup rapat dan tetap dipertahankan berada dalam bentuk larutan untuk mencegah terjadinya kristalisasi dari EPMS.

4.5. Penentuan cemaran logam berat dalam ekstrak

Penentuan kadar logam berat dilakukan sesuai dengan monografi herbal yaitu

Pb : 0.211 ppm (batas tidak lebih dari 10 ppm)

Cd : 0.027 ppm (batas tidak lebih dari 0,3 ppm)

As : 0 ppm (tidak lebih dari 5 ppm)

4.6. Penentuan cemaran mikroba dalam ekstrak

Sesuai dengan monografi herbal, dilakukan juga penentuan cemaran mikroba pada ekstrak kencur dan hasilnya adalah sebagai berikut :

Angka lempeng total : negatif

Angka kapang/khamir : negatif

MPN koliform : negatif

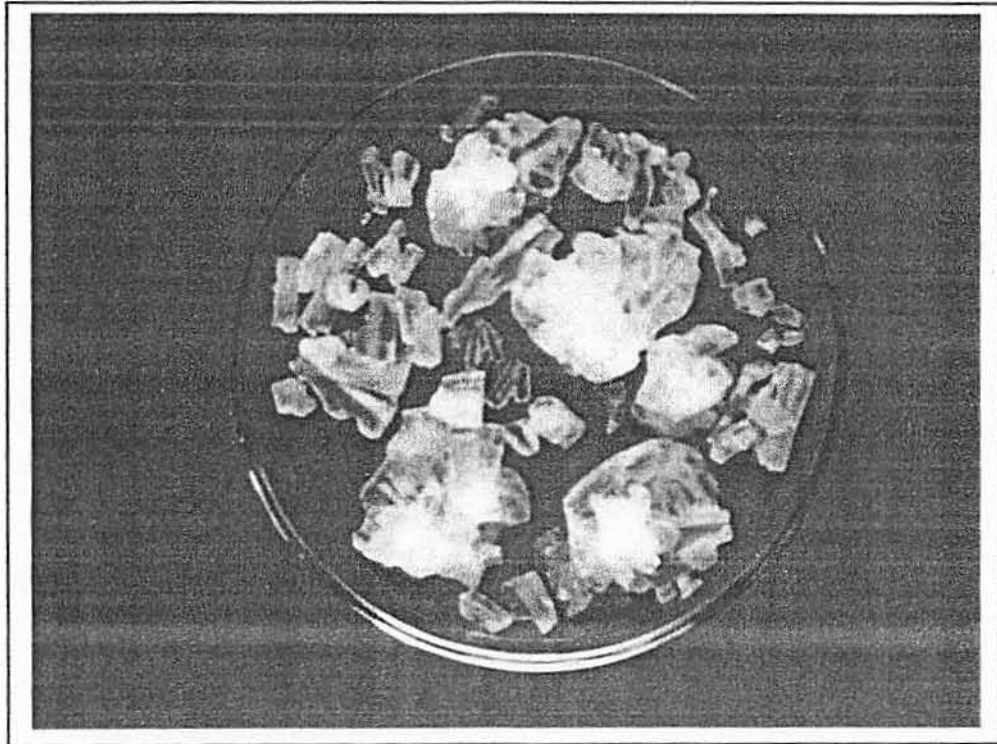
Mikroba patogen :

- *Escherichia coli* : negatif
- *Salmonella thyphimurium* : negatif
- *Staphylococcus aureus* : negatif
- *Pseudomonas aeruginosa* : negatif

4.7. Tahap isolasi EPMS.

Senyawa marker yang dipilih untuk kencur adalah Etil para metoksi sinamat atau EPMS dengan pertimbangan bahwa EPMS merupakan senyawa yang terdapat dalam kencur dalam jumlah yang sangat besar. Disamping itu EPMS sangat mudah diisolasi dari ekstrak kencur. Dari ekstrak yang telah dipekatkan akan terlihat adanya kristal berwarna putih, kristal ini disaring kemudian

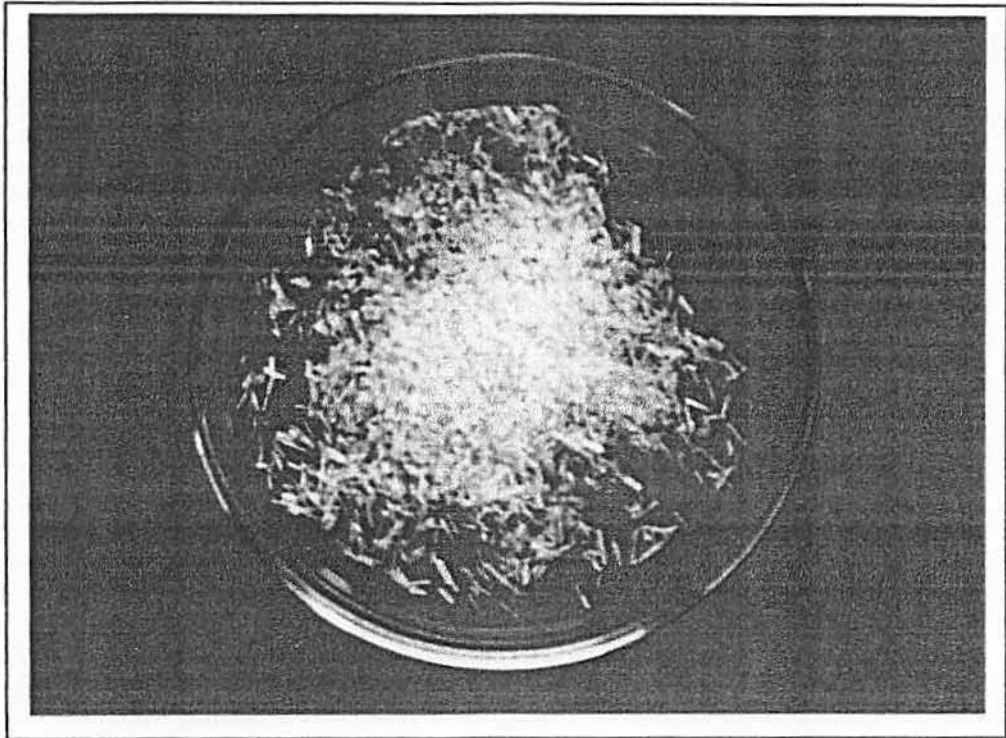
dilakukan purifikasi. Dilakukan terus sampai tidak mengkristal lagi. **Rendemen yang diperoleh adalah sebesar 23,9 %**



Kristal EPMS

4.8. Tahap hidrolisis EPMS menjadi APMS

EPMS digunakan sebagai senyawa marker untuk penggunaan secara oral, dimana setelah mengalami metabolisme EPMS akan menjadi APMS yang akan menjadi aktif sebagai analgesik. Sedangkan untuk penggunaan topikal senyawa marker yang digunakan adalah APMS. Untuk membuat APMS, isolat EPMS dihidrolisis dengan melarutkannya ke dalam metanol dan ditambah dengan KOH 10% lalu dihidrolisis selama 2 jam. Kristal putih yang diperoleh disaring dan dilakukan pemurnian. **Rendemen yang diperoleh adalah 43%.**



Kristal APMS

4.9. Tahap Penetapan kadar EPMS dalam ekstrak cair kencur.

Sebelumnya dilakukan optimasi/validasi penetapan kadar EPMS dalam ekstrak menggunakan KLT-densitometer.

Fase diam : Silika gel F 254

Fase gerak : Heksana : EA = 9 : 1

Hasil penetapan kadar 39% dengan Presisi 1,9% dan akurasi 98 %

winCATS Planar Chromatography Manager

Evaluation results

Evaluation Sequence

Track	Track type	Vol	Sample ID
1	Standard1	1	
2	Standard2	1	
3	Standard3	1	
4	Standard4	1	
5	Sample	1	sp1
6	Sample	1	sp2
7	Sample	1	sp3

Table of substances

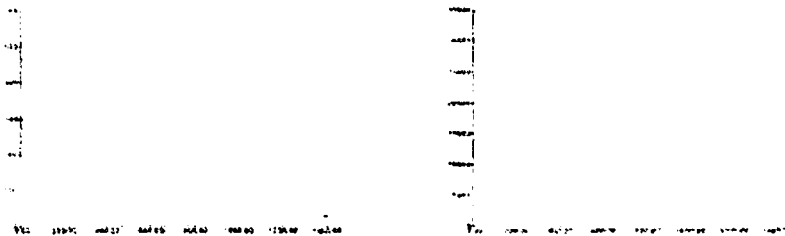
Substance	Position	Tracks
EPMS	42.8	1 2 3 4 5 6 7
AutoGenerated2	35.8	
AutoGenerated3	51.5	

Results per track

Substance: EPMS @ 306 nm

Regression via height: Linear $Y = 232.6 + 0.2344 * X$ $r = 0.98565$ $sdv = 5.05$
 Regression via area: Linear $Y = 9137 + 14.09 * X$ $r = 0.99332$ $sdv = 4.71$

Track	Vol	RF	Amount	Height	X(Calc)	Area	X(Calc)	SampleID/Remark
1	1	0.45	400.00 ng	308.68		14145.17		
2	1	0.44	600.00 ng	368.89		17953.17		
3	1	0.44	1000.00 ng	483.89		24074.71		
4	1	0.44	1.400 µg	547.88		28283.48		
5	1	0.45		522.73	1.239 µg	28019.27	1.198 µg	sp1
6	1	0.45		515.07	1.205 µg	26838.79	1.254 µg	sp2
7	1	0.46		543.09	1.325 µg	27652.01	1.314 µg	sp3



winCATS summary report

Calibration results per Analysis

4.10. Pembuatan sediaan dan karakterisasi sediaan phytosom dan liposom

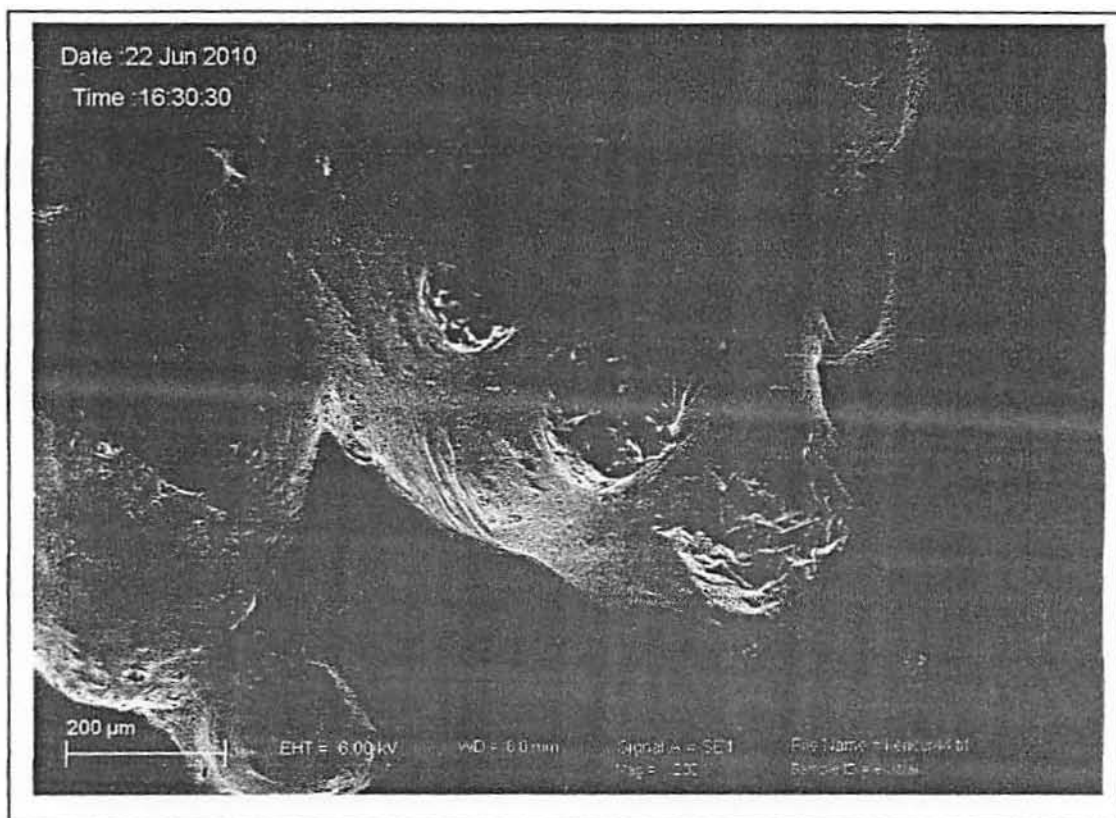
1. phytosom

Campuran ekstrak : fosfolipid dengan berbagai perbandingan dilarutkan dalam methanol. Lapisan film tipis akan terbentuk selama proses pengeringan pelarut menggunakan rotary evaporator dan penyimpanan dalam eksikator selama 24 jam.

Kemudian ditambahkan PBS dan didiamkan selama 1 jam, setelah itu disonifikasi selama 30 detik.

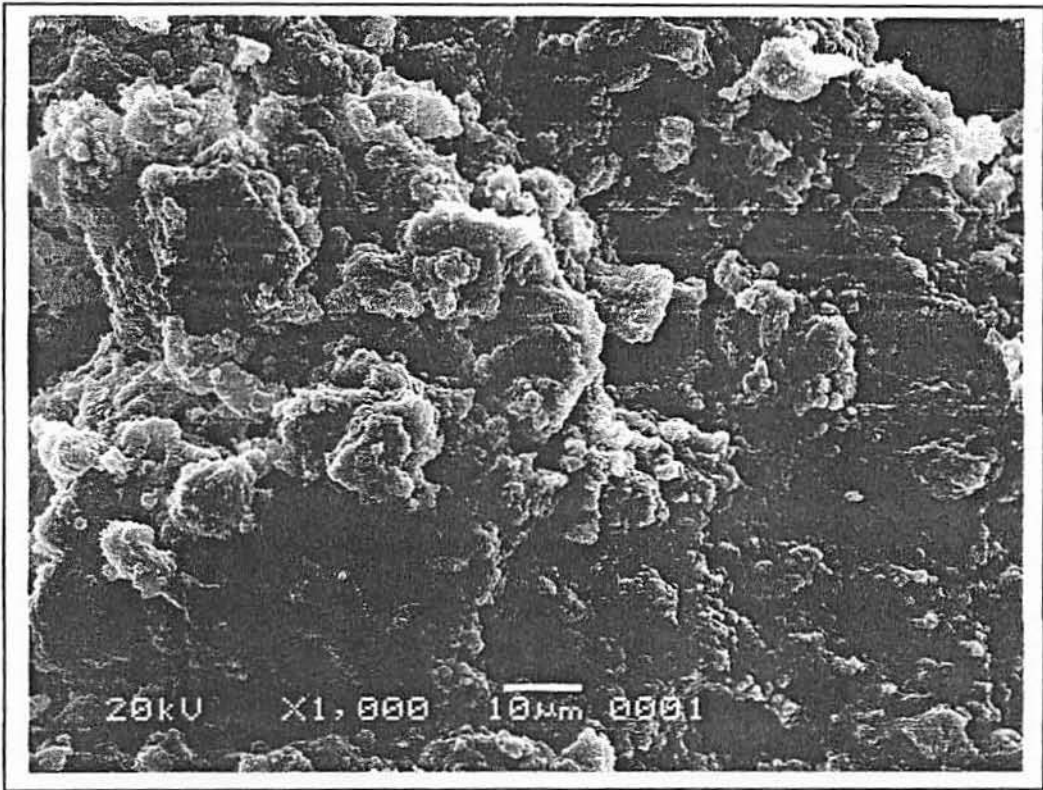
Setelah dilakukan optimasi maka diperoleh perbandingan yang tepat untuk ekstrak kencur adalah 1 : 10, untuk minyak atsiri 2 : 15, untuk EPMS adalah 1 : 5 dan untuk APMS adalah 1 : 10

Hasil karakterisasi dengan SEM adalah sebagai berikut :



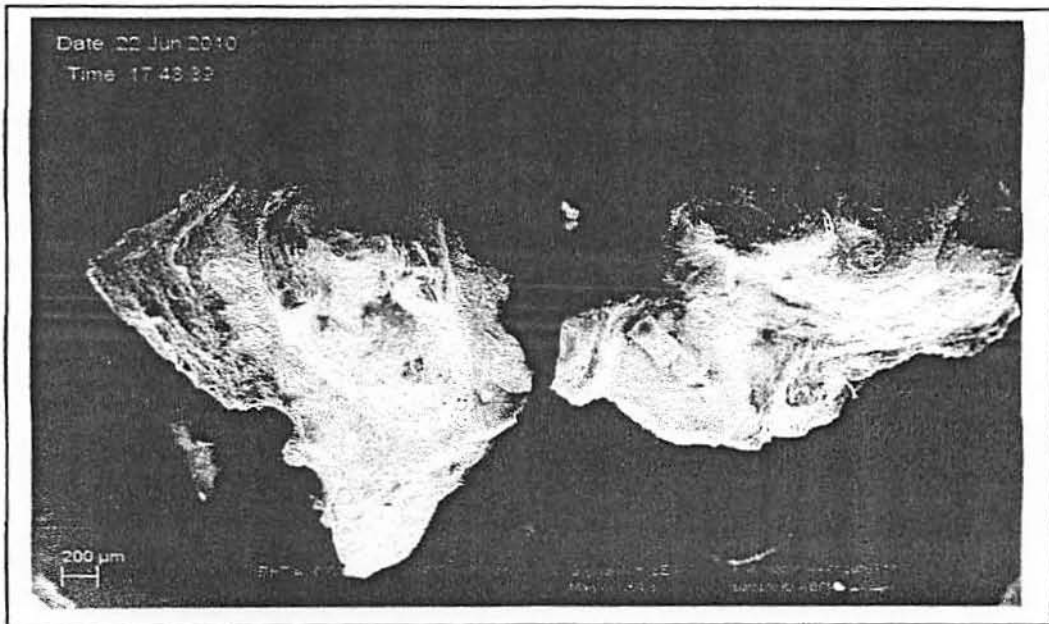
Ekstrak kencur

Pada gambar ekstrak kencur terlihat bentukan yang tidak jelas dan juga terlihat adanya kristal-kristal EPMS di dalam ekstrak, ini akan mengakibatkan ketidakhomogenan dari ekstrak yang juga akan berakibat timbulnya kesulitan pada saat dilakukannya bahan-bahan tambahan yang diperlukan.



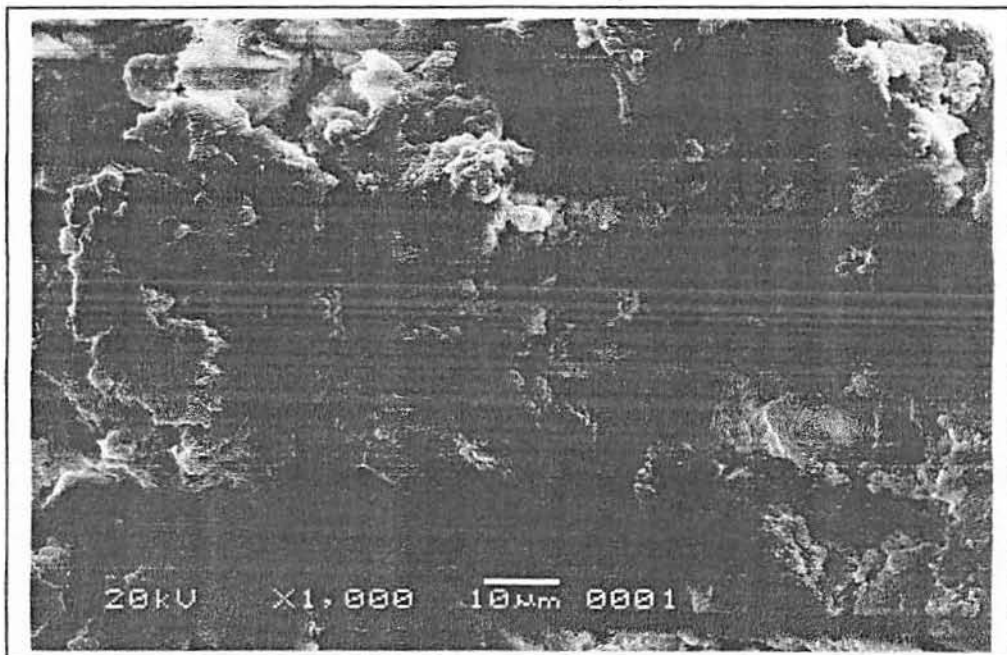
Phytosom ekstrak kencur

Pada gambar tersebut terlihat bentukan-bentukan yang homogen dan sudah tidak lagi terlihat kristal-kristal EPMS seperti gambar sebelumnya. Hal ini berarti penggunaan fosfolipid telah mampu membentuk kompleks phytosom.

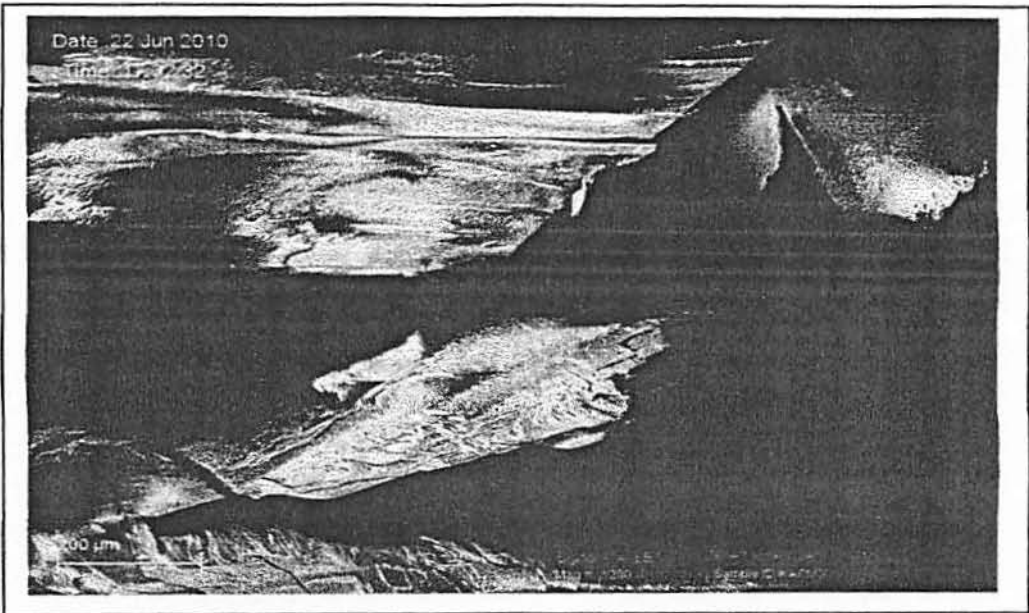


Kristal EPMS

Pada gambar tersebut terlihat bongkahan-bongkahan kristal EPMS. Dengan teknologi phytosom bongkahan-bongkahan ini sudah tidak terlihat lagi sebab telah terbentuk kompleks dengan fosfolipid seperti yang terlihat pada gambar di bawah ini.

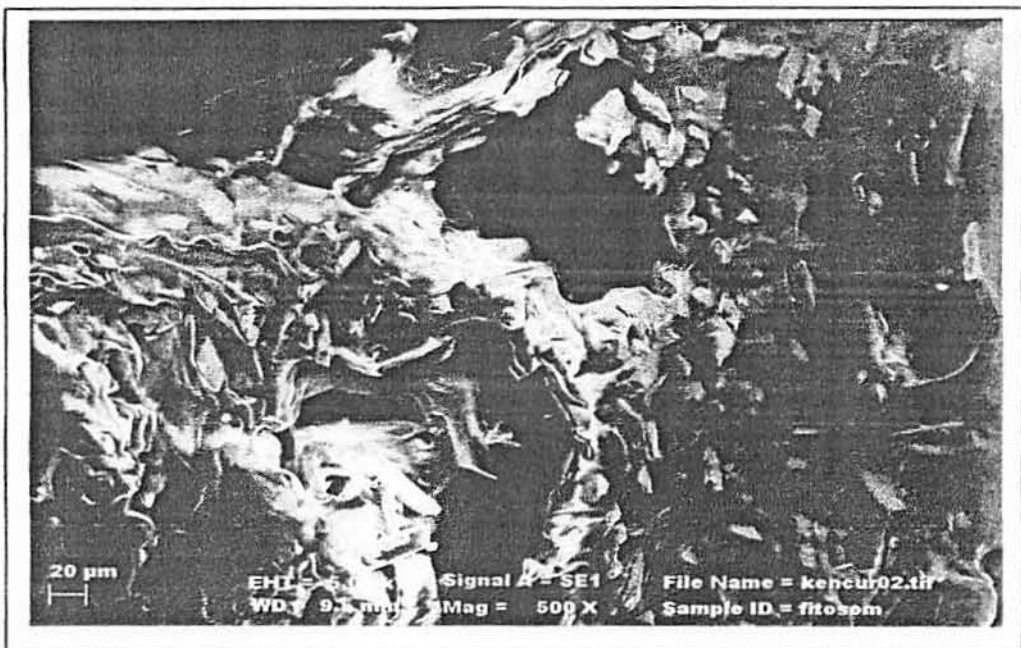


Phytosom EPMS

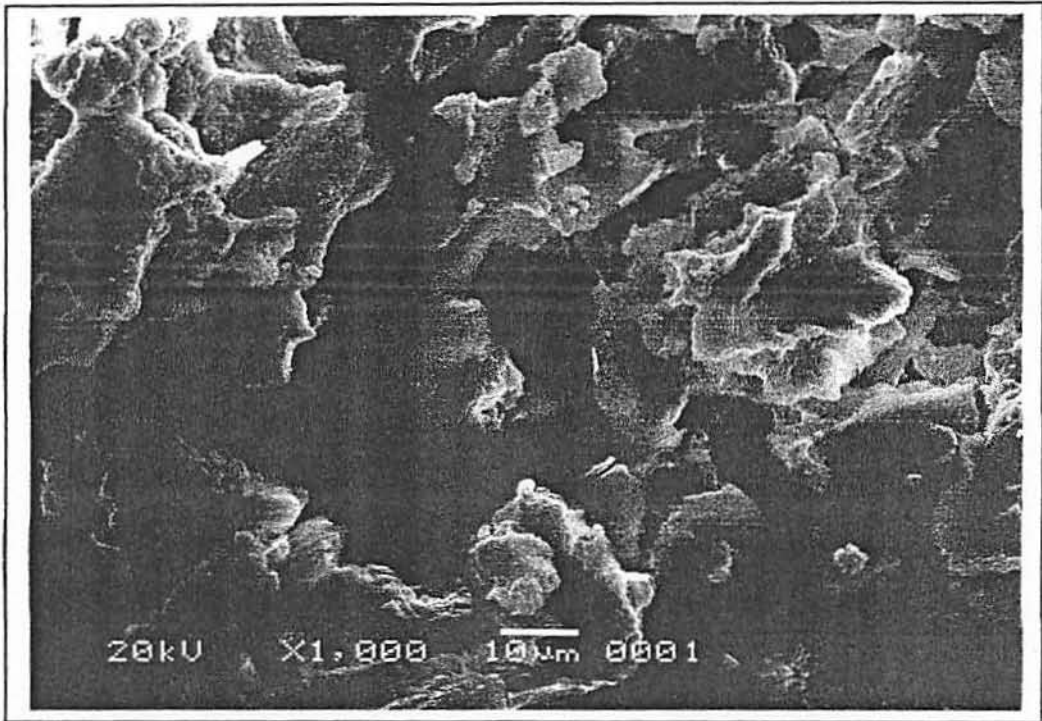


Kristal APMS

Seperti halnya dengan EPMS, pada gambar tersebut terlihat kristal-kristal APMS yang berbentuk bongkahan. Setelah terbentuk kompleks dengan fosfolipid maka yang terbentuk adalah benrukan yang homogen seperti yang terlihat pada gambar di bawah ini



Phytosom APMS

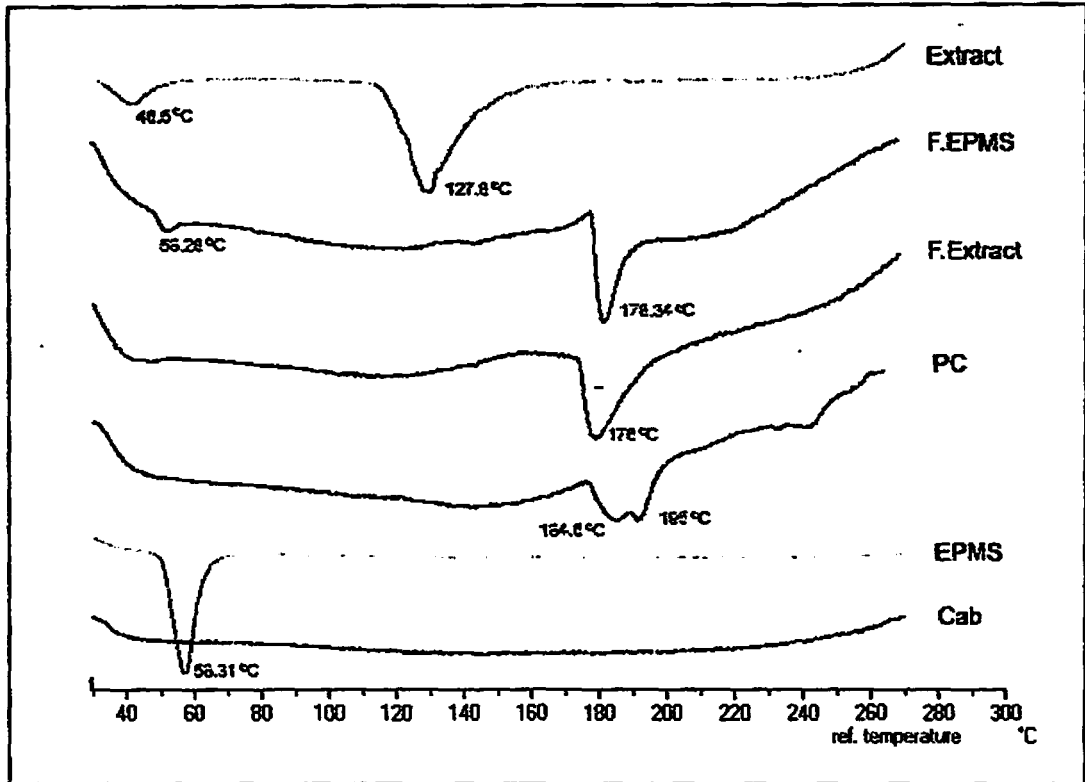


Phytosom Minyak Atsiri

Karena minyak atsiri berbentuk cair maka tidak bisa difoto menggunakan SEM, tetapi kompleks fosfolipid yang terbentuk menunjukkan bentuk-bentukan yang homogen.

Selanjutnya dilakukan karakterisasi menggunakan DTA dan hasilnya adalah sebagai berikut :

Hasil karakterisasi dengan DTA adalah sebagai berikut :



Dari gambar di atas terlihat bahwa peak EPMS baik yang tunggal maupun yang berada di dalam ekstrak sudah hilang pada bentuk phytosomnya. Hal ini menunjukkan bahwa kompleks dengan fosfolipid sudah terbentuk.

2. liposom

Campuran ekstrak : fosfolipid : kolesterol (1:10:10) dilarutkan dalam methanol. Lapisan film tipis akan terbentuk selama proses pengeringan pelarut dan penyimpanan dalam eksikator selama 24 jam, setelah itu disonifikasi selama 30 detik dan dilakukan pengeringan dengan freezed dryer.

Karakterisasi pembentukan phytosom/liposom dilakukan dengan TEM, DTA dan FTIR.

Dari tahapan optimasi untuk mendapatkan perbandingan antara ekstrak/minyak atsiri/APMS : fosfolipid : kolesterol. Diketahui bahwa untuk ekstrak digunakan 10 mmol, sedangkan untuk minyak atsiri dan APMS digunakan 50 mmol.

Karakterisasi liposom hanya bisa dilakukan dengan CRYO-TEM dan karena tidak memungkinkan untuk dilakukan maka bentuk liposom hanya akan dibandingkan aktivitas analgesiknya saja.

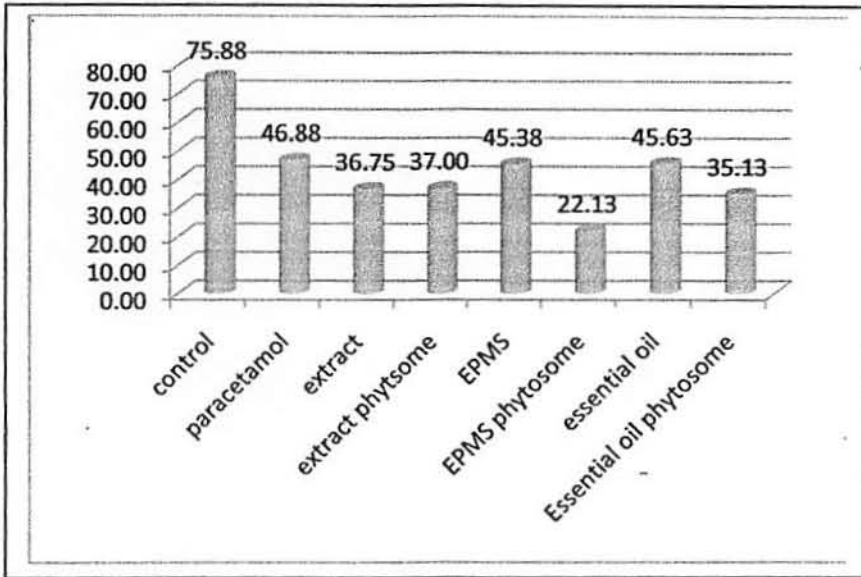
4.11.Uji Analgesik

4.11.1. Uji aktivitas analgesik oral dengan metode writhing test

Pada uji analgesik oral, writhing atau geliatan dihitung selama 30 menit dan datanya adalah sebagai berikut :

mencit	Jumlah geliatan							
	kontrol	paracetamol	extract	Phytosom extract	EPMS	Phytosom EPMS	m.a	Phytosom m.a
1	78	48	39	40	40	24	47	39
2	74	46	36	39	46	22	47	38
3	70	49	40	35	43	20	49	37
4	76	50	34	36	46	25	44	35
5	77	44	35	36	44	22	46	35
6	75	46	34	38	48	21	44	34
7	77	44	38	34	48	22	45	30
8	80	48	38	38	48	21	43	33
Rata2	75.88	46.88	36.75	37.00	45.38	22.13	45.63	35.13
SD	3.00	2.23	2.31	2.07	2.88	1.64	2.00	2.90

Dari rata-rata jumlah geliatan masing-masing kelompok dibuat grafiknya menjadi seperti berikut :



Dari data mentah di atas kemudian dilakukan uji Statistik menggunakan one-way Anova dan hasilnya adalah sebagai berikut :

ANOVA

Writhings

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13448.688	7	1921.241	327.268	.000
Within Groups	328.750	56	5.871		
Total	13777.438	63			

Dari tabel tersebut terlihat angka signifikannya $< 0,05$ yang berarti terdapat minimal sepasang kelompok yang berbeda secara signifikan. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda uji dilanjutkan dengan posthoc test menggunakan Duncan, hasilnya adalah sebagai berikut :

writhings

Duncan^a

groups	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
phyt-EPMS	8	22.1250			
phyt-EO	8		35.1250		
extract	8		36.7500		
phyt-extract	8		37.0000		
EPMS	8			45.3750	
EO	8			45.6250	
paracetamol	8			46.8750	
control	8				75.8750
Sig.		1.000	.150	.249	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Dari tabel Duncan tersebut terlihat seluruh kelompok berbeda bermakna bila dibandingkan dengan kelompok control dan yang mempunyai aktivitas analgesic oral terbaik adalah kelompok phytosom EPMS. Kelompok phytosom minyak atsiri, ekstrak dan phytosom ekstrak mempunyai aktivitas yang sama karena berada dalam satu kelompok. Sedangkan EPMS, minyak atsiri dan paracetamol juga mempunyai aktivitas yang sama karena berada dalam satu kelompok.

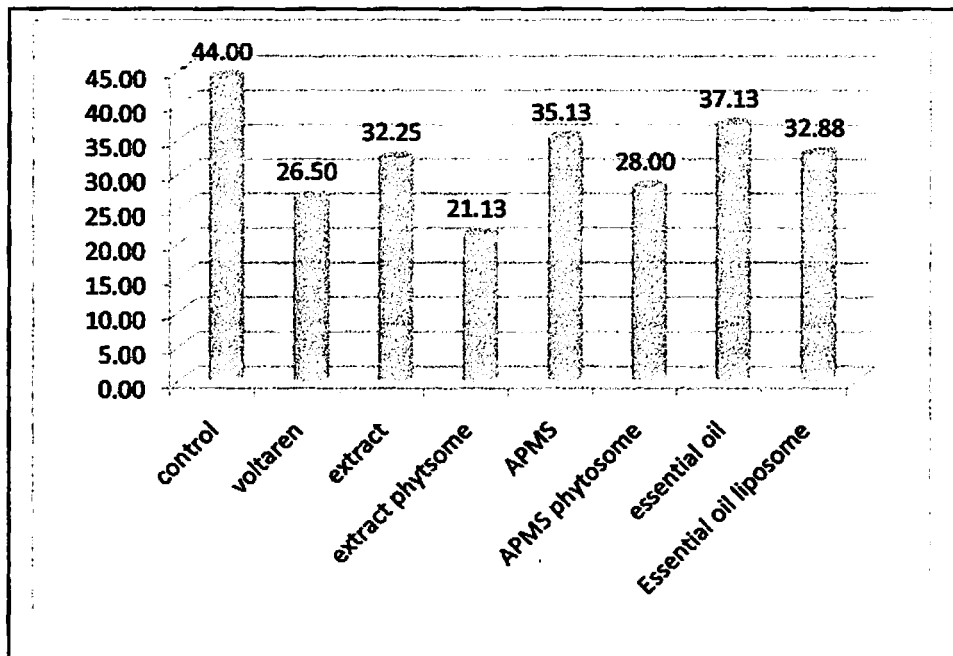
4.11.2. Uji aktivitas analgesik topikal dengan metode writhing test

Seperti halnya dengan uji analgesik oral, pada uji analgesik topikal, jumlah geliatan juga dihitung selama 30 menit. Sampel diberikan secara topikal di daerah

perut yang bulunya telah dicukur supaya tidak mengganggu penetrasi sampel. Dan hasilnya adalah sebagai berikut :

mencit	Jumlah geliatan								
	kontrol	voltaren	extract	Phytosom extract	APMS	Phytosom APMS	m.a	Liposom m.a	
1	48	24	33	20	33	34	38	34	
2	41	28	36	29	32	30	35	37	
3	40	24	30	14	35	32	39	37	
4	44	25	34	20	34	25	40	30	
5	44	26	30	21	38	22	36	32	
6	45	26	31	20	36	29	38	31	
7	47	29	31	27	35	22	37	30	
8	43	30	33	18	38	30	34	32	
Rata2	44.00	26.50	32.25	21.13	35.13	28.00	37.13	32.88	
SD	2.73	2.27	2.12	4.79	2.17	4.50	2.03	2.85	

Dari rata-rata jumlah geliatan di atas dibuat grafik seperti gambar di bawah ini



Dari data mentah di atas dilakukan uji Statistik menggunakan one-way Anova dan hasilnya adalah sebagai berikut :

ANOVA

Writhings

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2762.000	7	394.571	40.843	.000
Within Groups	541.000	56	9.661		
Total	3303.000	63			

Dari tabel anova di atas terlihat angka signifikansi yang $< 0,05$ berarti terdapat minimal satu pasang kelompok yang berbeda bermakna. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka uji dilanjutkan dengan posthoc test menggunakan Duncan, dan hasilnya adalah sebagai berikut :

writhings

Duncan^a

groups	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
phyt-extract	8	21.1250				
voltaren	8		26.5000			
phyt-APMS	8		28.0000			
extract	8			32.2500		
lip-EO	8			32.8750		
APMS	8			35.1250	35.1250	
EO	8				37.1250	
control	8					44.0000
Sig.		1.000	.339	.085	.203	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Dari tabel Duncan tersebut dapat diketahui bahwa semua kelompok berbeda bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok yang terbaik adalah phytosom ekstrak yang bahkan menunjukkan aktivitas yang lebih baik bila dibandingkan dengan obat pembanding.

4.12. Uji Toksisitas akut (LD50)

Untuk mengetahui keamanan penggunaannya maka dilakukan uji toksisitas akut. Namun hanya dilakukan pada penggunaan oral saja. Pada masing-masing sampel dilakukan dengan 3 dosis dan hasilnya seluruh sampel menunjukkan hasil yang sama seperti terlihat pada tabel berikut :

Kelompok	N	Jumlah kematian
Kontrol	10	0
D1 (5000 mg/kg BB)	10	0
D2 (7500 mg/kg BB)	10	0
D3 (10000 mg/kg BB)	10	0

Dari hasil pemeriksaan jumlah kematian untuk menentukan LD50 diketahui bahwa sampai pada pemberian dosis terbesar 10000 mg/kg BB mencit tidak terjadi kematian, sehingga tidak diperoleh nilai LD50. Hal ini berarti sampel aman untuk digunakan.

Pengamatan dilanjutkan sampai hari ke-7 untuk melihat kegaja toksik yang muncul.

Tabel 2. Gejala toksik

Efek yang diamati	Kontrol (-)				D5000				D7500				D10000			
	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7	1	3	5	7
Hari ke																
Pernafasan	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Tremor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kejang	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Writhing	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Palpitasi cardiac	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Refleks mata	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Defekasi	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Urinasi	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Reaksi terhadap rangsang	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Hasil pengamatan gejala toksik (pada tabel di atas) menunjukkan tidak terlihat adanya gejala toksik pada semua hewan coba.

BAB 5

KESIMPULAN

1. Ekstrak rimpang kencur, minyak atsiri kencur, EPMS dan APMS dapat dibuat sediaan dalam bentuk phytosome dengan berbagai perbandingan terbukti dari hasil karakterisasi menggunakan SEM dan DTA
2. Untuk analgesik oral yang terbaik adalah produk phytosome EPMS dan akan dilanjutkan dengan formulasi pada tahun kedua.
3. Minyak atsiri kencur dan APMS dapat dibuat sediaan dalam bentuk liposom dengan perbandingan tertentu dan keberhasilannya hanya akan ditentukan melalui uji analgesik topikal
4. Untuk analgesik topikal yang terbaik adalah produk phytosome ekstrak rimpang kencur dan akan dilanjutkan dengan formulasi pada tahun kedua
5. Semua produk baik phytosome dan liposom aman untuk digunakan berdasarkan parameter toksisitas akut

PUSTAKA

1. Dang Yi, 2000, UPC code-0300540111783, New product concept.
2. Mascarella S., 1993, Therapeutic and antilipoperoxidant effects of silybin-phosphatidylcholine complex in chronic liver disease, Preliminary results. *Curr Ther.Res.*,53(1),98-102.
3. Magistretti Maria Jose, Bombardelli Ezio, 1987, U.S. Patent No-EPO209037 Pharmaceutical compositions containing flavanolignans and phospholipida active principles.
4. Sharma Shalini, Sikarwar Mukesh, Phytosome: a review, *Planta Indica*, Vol.1, No. 2, April 2005, 1-3.
5. Bombardelli Ezio, Mustich Giuseppe, 1991, U.S. Patent No.EPO-275005 bilobalide phospholipid complex, their uses and formulation containing them.
6. Franco P.G., Bombardelli, Ezio, 1998, U.S. Patent No-EPO 275005, Complex compounds of bioflavonoids with phospholipids, their preparation and uses and pharmaceutical and cosmetic compositions containing them.
7. Jain N.K, Controlled and novel drug delivery, 1 st edition, CBS publisher, 2005, 321-326.
8. Bombardelli Ezio, Phytosome in functional cosmetics, *Fitoterapia LXV (5):* 1994, 387-401.
9. Parris Kidd, Kathleen H, A review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome: a silybin-phosphatidylcholine complex, *Altern Med Rev* 2005; 10(3): 193-203.
10. Kingom A.D., Pharmacognosy in 21 st century, *Journal of Pharmacognosy and pharmacology*, 2001, 53,135-148.
11. Gabetta Bruno, Bombardelli Ezio, Pifferi Giorgia, 1986, U.S. Patent No-4764508 Complexes of flavanolignans with phospholipids, preparation there of and associated pharmaceutical compositions.
12. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian, 2005, *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Tanaman Obat*, Badan Litbang Pertanian, Jakarta
13. Dang Yi, 2000, UPC code – 0300540111783, *New Product Concept*
14. Parris Kidd, Kathleen H, A review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome : a silybin-phosphatidylcholine complex, *Altern Med Rev* 2005; 10(3) : 193-203
15. Vandana S Panda, Suresh R Naik, Cardioprotective activity of *Ginkgo biloba* Phytosomes in isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats: A biochemical and histoarchitectural evaluation, *Experimental and Toxicologic Pathology* 60 (2008) 397–404
16. Keys, J.D., 1976. *Chinese Herbs* (Their Botany, Chemistry, and Pharmacodynamics). Charles E. Tuttle Company, Inc., Tokyo.
17. Lieu, V.D., 1990. *Medicinal Plants in Vietnam*. Ha Noi. p. 239.

18. Othman R., Ibrahim H., Mohd. MA., Mustafa MR, Awang K, 2006, Bioassay-guided isolation of a vasorelaxant active compound from *Kaempferia galanga* L. *Phytomedicine* 13, 61-66
19. D. Kanjanapothi et al. Toxicity of crude rhizome extract of *Kaempferia galanga* L. (Proh Hom). *Journal of Ethnopharmacology* 90 (2004) 359-365
20. Nakao, M., Shibu, C., 1924. *Yakugaku Zasshi* 44, 913
21. Kusumawati I, dan Dyamiko W, 2008, Unpublished Report.

Surabaya, 15 Nopember 2010

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga

Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., MS
NIP : 19590805 198701 1 001

