Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 13, No. 2, 2008, halaman 66 – 72
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410 – 0177

Peningkatan Kelarutan Kuersetin Melalui Pembentukan Kompeks Inklusi dengan β-Siklodekstrin

Syofyan, Henny Lucida, Amri Bakhtiar
Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Diterima tanggal : 11 Juli 2008 disetujui : 18 September 2008

Abstract

Quercetin, a chemical cousin of the glycoside rutin from *Manihot esculenta* Crantz, appears to have several biologically activities. Preformulation studies usually associated with a new potent drug substances, includes solubility. The complexation of quercetin by β-cyclodextrin indicated an A_L-type diagram with inclusion complex of 1:1 molar ratio and the stability constant (K) of 403,58 M^{-1}. the complexation enhance solubility 9-fold compared with that of quercetin, howers it was not efective for liquid and oral phamaceutical applications.

Keywords: Quercetin, β-cyclodextrin , complex of inclusion, solubility.

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan berbagai jenis biota tumbuhan tropis yang telah dimanfaatkan sejak turun temurun untuk memenuhi berbagai kebutuhan hidup seperti sebagai obat-obatan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan tumbuhan berupa senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenol dan lain-lain telah memberikan beragam efek farmakologis yang baik sehingga telah banyak digunakan dalam pengobatan (Syamsulhidayat, 1991 dan Arbain, 2004).

Tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) misalnya, merupakan tanaman yang paling gampang ditemukan dan mudah dibudidayakan, berbagai jenis kandungan kimia terutama dari jenis flavonoid dalam bentuk senyawa murni seperti rutin, kuersetin dan lain sebagainya telah banyak diisolasi dari tanaman ini terutama dari daunnya (Soediro, *et. al*, 1984). Di antara jenis senyawa tersebut di atas, kuersetin ternyata memiliki banyak sekali aktivitas biologisnya. Data dari *Natural Product Alert (NAPRALERT (SM)*, 1997) dan publikasi lainnya menunjukkan bahwa bioaktivitas kuersetin sangat luas, diantaranya dapat berefek sebagai antioksidan, antibakteri, antiedema, antifungal, antiinflamasi, antitumor, antiulser, antiviral dan lain sebagainya, sehingga senyawa bioaktif kuersetin ini memberikan harapan sebagai bahan baku obat yang sangat potensial untuk dikembangkan.

Untuk itu perlu pengkajian lebih lanjut terhadap senyawa kuersetin ini sehingga dapat dikembangkan sebagai kandidat obat. Sebagai langkah awal yang perlu dilakukan dalam pengembangan kandidat obat ini adalah melakukan studi preformulasi yaitu suatu usaha mengkarakterisasi sifat fisikokimia senyawa obat (Ansel, 1989; Martin, *et. al*, 1990). Menurut Wells (1988), dalam studi preformulasi ini, ada dua sifat dasar zat yang perlu sekali diketahui yaitu berupa data kelarutan intrinsik dan konstanta ionisasinya.

Dari sifat-sifat dasar ini, selanjutnya dilakukan usaha untuk meningkatkan sifat kelarutan dari kuersetin melalui metode pembentukan kompleks inklusi dengan senyawa β-siklodekstrin sehingga nantinya kuersetin diharapkan dapat efektif dibuat dalam bentuk sediaan larutan. (Lachman, *et. al*, 1989).

Metodologi

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah : kuersetin, β-siklodekstrin, etanol dan aquabidest.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah: spektrofotometer UV-1601 (*Shimadzu*), timbangan digital M-220 D (*Denver Instrument*), pipet mikro, pipet ukur, labu Erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, *shaker*, pipet gondok dan vial.

Pemeriksaan Pendahuluan

Pemeriksaan pendahuluan kuersetin meliputi pemeriksaan pemerian seperti bentuk dan warna, kelarutan, titik lebur dan spektrum UV-Vis dan FTIR nya.

Uji Kelarutan Intrinsik Kuersetin

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Kuersetin

Larutan induk dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin, dilarutkan dengan etanol 30% sampai 100 mL. Dari larutan dipipet 10 mL, diencerkan dengan etanol ad 100 mL sehingga didapatkan kadar 1000 µg/100 mL (10 µg/mL). Serapan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 200-400 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Satu seri konsentrasi larutan kuersetin dalam etanol dibuat dari larutan induk di atas, yaitu dengan konsentrasi : 4, 8, 10, 12 dan 14 µg/mL. Kemudian serapannya diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang serapan maksimum kuersetin yang didapat.

Dari data ini persamaan regresi antara konsentrasi kuersetin dengan serapan dibuat.

Pembentukan Kompleks Kuersetin dengan β-siklodekstrin

Untuk meningkatkan kelarutan kuersetin, dilakukan dengan metode pembentukan kompleks inklusi dengan menggunakan pengompleks β-siklodekstrin. Caranya sama dengan uji kelarutan seperti di atas.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

Pemeriksaan pendahuluan adalah berupa pemeriksaan terhadap kuersetin dengan hasil seperti dalam Tabel 1.

Pemeriksaan penentuan panjang gelombang serapan maksimum kuersetin dalam pelarut etanol 30% menunjukkan dua panjang gelombang maksimum yaitu 374,4 dan 257,2 nm.

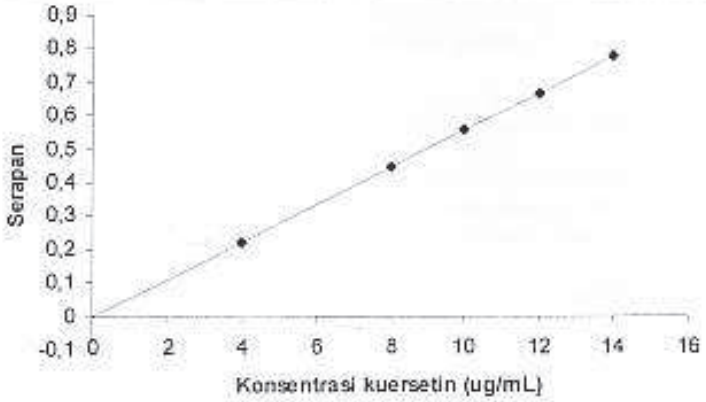
Tabel 1. Hasil pemeriksaan kuersetin.

No.	Pemeriksaan	Rujukan	Persyaratan	Pengamatan
1	Pemerian			
	a. Bentuk	Anonim, 1983	Serbuk	Serbuk
	b. Warna	Anonim, 1983	Kuning	Kuning
2	Kelarutan			
	a. Dalam air	Anonim, 1983	Praktis tidak larut	4,5 µg/mL
	b. Dalam etanol abs	Anonim, 1983	4,0 mg/mL	4,0 mg/mL
	c. Dalam etanol 30 %	Zenkevich, *et. al*, 2007	0,28 mg/mL	0,28 mg/mL
	d. Dalam etanol 70 %	Zenkevich, *et. al*, 2007	3,5 mg/mL	3,5mg/mL
3	Titik lebur	Painter, 1998	> 300 °C	305 °C
4	Panjang gelombang serapan maksimum dalam etanol	Anonim, 1983	258 dan 375 nm	257,2 dan 374,4 nm

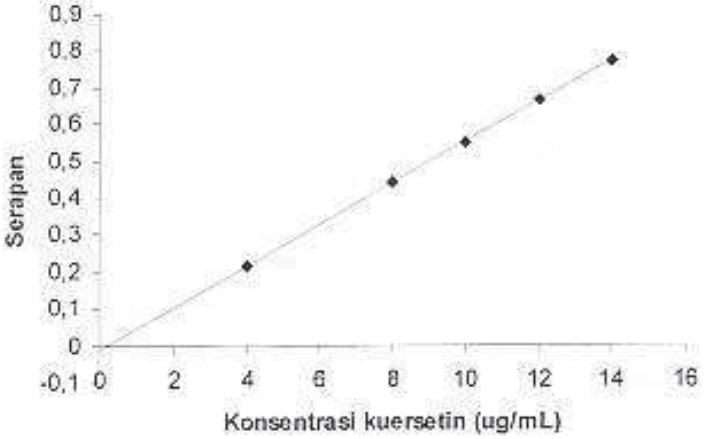
Dalam menetapkan kadar kuersetin yang terlarut digunakan kurva baku secara spektrofotometri pada panjang gelombang serapan maksimum. Kurva baku ini menggambarkan hubungan antara kadar kuersetin (µg/mL) dengan serapan seperti tersaji dalam Tabel 2 dan Gambar 1 dan 2. Dari kurva kalibrasi ini, persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh yaitu $Y = 0,0559X - 0,0043$, $r = 1$ untuk panjang gelombang 374,4 nm serta $Y = 0,0563X - 0,0126$, $r = 0,9999$ untuk panjang gelombang 257,2 nm

Tabel 2. Penetapan kurva kalibrasi kuersetin dalam pelarut etanol 30%.

No	Konsentrasi (µg/mL)	Serapan 1 (λ_1 374,4 nm)	Serapan 2 (λ_2 257,2 nm)
1	4	0,219	0,212
2	8	0,443	0,440
3	10	0,555	0,547
4	12	0,666	0,664
5	14	0,778	0,775



Gambar 1. Kurva kalibrasi kuersetin dalam pelarut etanol 30% pada panjang gelombang 374,4 nm.

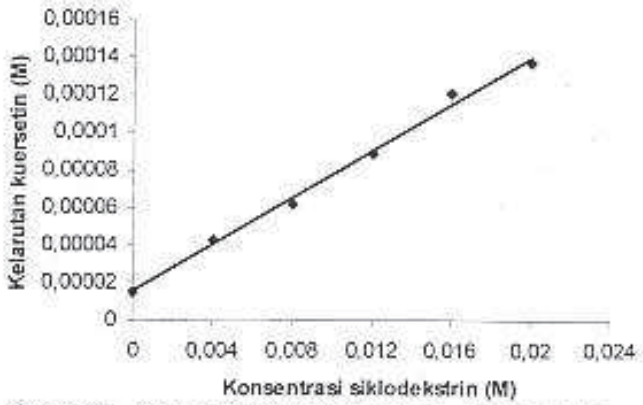


Gambar 2. Kurva kalibrasi kuersetin dalam pelarut etanol 30% pada panjang gelombang 257,2 nm.

Untuk meningkatkan kelarutan kuersetin yang terbatas dalam media air, maka dapat dilakukan dengan metode pembentukan kompleks inklusi dengan senyawa β-siklodekstrin. Hubungan antara kadar β-siklodekstrin dengan kelarutan kuersetin, dapat dilihat dalam Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Penetapan konstanta kompleks kuersetin-β Siklodekstrin

Konsentrasi β-Siklodekstrin (M)	Serapan	Faktor Pengenceran	Konsentrasi Kuersetin (µg/mL)	Konsentrasi Kuersetin (x 10^{-5} M)
0	0,279	1	5,0680	1,4982
	0,285	1	5,1753	1,5299
	0,281	1	5,1038	1,5088
Rata-rata	0,282	1	5,1216	1,5141
Standar deviasi (SD)			0,0547	0,016
Koefisien Variasi (KV)			1,1 %	1,1 %
0,004	0,194	4	14,1896	4,1948
	0,199	4	14,5474	4,3005
	0,198	4	14,4758	4,2794
Rata-rata	0,197	4	14,4043	4,2582
Standar deviasi (SD)			0,1893	0, 056
Koefisien Variasi (KV)			1,3 %	1,3 %
0,008	0,349	3,3	20,8567	6,1657
	0,357	3,3	21,3290	6,3053
	0,347	3,3	20,7386	6,1308
Rata-rata	0,351	3,3	20,9748	6,2006
Standar deviasi (SD)			0,3124	0, 092
Koefisien Variasi (KV)			1,5 %	1,5 %
0,012	0,498	3,3	29,6528	8,7660
	0,507	3,3	30,1841	8,9231
	0,51	3,3	30,3612	8,9754
Rata-rata	0,505	3,3	30,0660	8,8882
Standar deviasi (SD)			0,3687	0, 109
Koefisien Variasi (KV)			1,2 %	1,2 %
0,016	0,458	5	41,3506	12,2241
	0,449	5	40,5456	11,9862
	0,452	5	40,8140	12,0655
Rata-rata	0,453	5	40,9034	12,0919
Standar deviasi (SD)			0,4099	0, 121
Koefisien Variasi (KV)			1,0 %	1,0 %
0,02	0,52	5	46,8962	13,8636
	0,515	5	46,4490	13,7313
	0,507	5	45,7335	13,5198
Rata-rata	0,514	5	46,3596	13,7049
Standar deviasi (SD)			0,5865	0, 173
Koefisien Variasi (KV)			1,3 %	1,3 %



Gambar 3. Diagram fasa kelarutan kuersetin - β-siklodekstrin.

Hubungan antara konsentrasi β-siklodekstrin dengan kelarutan kuersetin seperti gambar 3, menghasilkan garis yang linear dan disebut tipe A_L (tipe 1:1) dengan persamaan berikut: Y = (6,2246 x 10^{-2})X + (1,5520 x 10^{-5}). Dari persamaan ini, diperoleh nilai intersep A = (1,5520 x 10^{-5}) dan slope B = (6,2246 x 10^{-2}), sehingga dapat diperoleh nilai tetapan stabilitas kompleks (K) sebesar 403,58 M^{-1}.

Pembahasan

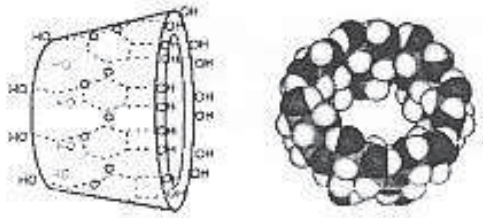
Penetapan kadar kuersetin yang terlarut menggunakan metode spektrofotometri dengan membuat kurva baku pada panjang gelombang serapan maksimumnya. Kurva baku ini menggambarkan hubungan antara kadar kuersetin dengan serapan seperti terlihat pada Gambar 1 untuk panjang gelombang 374,4 nm dan Gambar 2 panjang gelombang 257,24 nm. Dari kedua gambar memperlihatkan hubungan yang liner antara kadar kuersetin dan serapan, sehingga dapat dibuat persamaan garis lurusnya yang digunakan dalam penentuan kadar kuersetin terlarut.

Dilihat dari strukturnya, kuersetin termasuk senyawa polifenol yang bersifat polar, namun dari data kelarutannya kuersetin bersifat praktis tidak larut dalam air (Anonim, 1983) dan merupakan senyawa hidrofob (Painter, 1998; van Dijk, *et. al*, 2000). Dari data awal ini memberikan gambaran bahwa kuersetin memang sukar jika diformulasi dalam bentuk sediaan larutan.

Kelarutan kuersetin yang rendah dalam media berair, tentunya menjadi halangan dalam memformulasinya dalam bentuk sediaan larutan, di samping faktor stabilitasnya. Untuk itu, perlu dilakukan usaha peningkatan kelarutan kuersetin, salah satunya metode pembentukan kompleks (James, 1986; Martin, *et. al*, 1990). Kompleks yang digunakan adalah kompleks inklusi. Zat atau kuersetin akan terperangkap dalam ruang pengompleks yaitu β-siklodekstrin. Ada empat faktor yang mempengaruhi kompleksasi inklusi ini yaitu jenis siklodesktrin, ukuran rongga, pH dan bentuk ionisasi dan temperatur. Pada gliklazid misalnya, ukuran rongga dari β-silkodekstrin cocok untuk membentuk kompleks tapi dengan α-siklodekstrin tidak cukup untuk memasukkan cincin gliklazid. Sedangkan inklusi sebagian dari digitoksin dengan δ-siklodekstrin, dapat meningkatkan kelarutannya (Challa, *et. al*, 2005).

Pada penelitian ini dicoba dilakukan peningkatan kelarutan kuersetin dengan menggunakan metode pembentukan kompleks inklusi dengan senyawa β-siklodekstrin. Hubungan antara kadar β-siklodekstrin dengan kelarutan kuersetin, dapat dilihat dalam Gambar 3 dan diperoleh hubungan yang linear antara kadar β-siklodekstrin dengan kelarutan kuersetin dengan persamaan Y = 0,0062X + 0,000015; r = 0,9972. Linearitas ini menunjukkan bahwa tipe kurva yang terjadi adalah tipe A_L dimana mengindikasikan terbentuknya kompleks 1:1 antara kuersetin dengan β-siklodekstrin (Higuchi, *et. al*, 1965). Dari persamaan di atas, diperoleh harga tetapan stabilitas kompleks kuersetin adalah sebesar 403,58 M^{-1}. Nilai ini jauh lebih kecil dari nilai tetapan kompleks yang diperoleh dari flavonoid pinostrobin yaitu 112.500 M^{-1} (Isadiartuti, *et. al*,. 2001). Menurut Szejtli (1997), nilai tetapan kompleks yang baik berada antara 100 – 10.000 M^{-1}, karena jika nilainya lebih tinggi maka dapat mengurangi bioavailibilitasnya, dimana kompleks praktis tidak diserap

Proses terbentuknya kompleks inklusi kuersetin dengan β-siklodekstrin dapat dijelaskan dengan melihat faktor ukuran rongga β-silkodekstrin dan ukuran spatial molekul kuersetin, menggunakan Gambar 4 dan 5 berikut:



Gambar 4. Bentuk toroidal dan tiga dimensi dari β-silkodekstrin

Gambar 5. Perbandingan struktur datar dan tiga dimensi kuersetin.

β-siklodekstrin dengan bentuk toroidal seperti di atas, akan mempunyai lobang terbesar dan terkecil yang terbuka masing-masing disusun oleh semua gugus C(2) dan C(3)-OH sekunder dan gugus C(5)-CH_2OH primer. Bagian rongga dalam dari silinder atau toroidal ini disusun oleh atom H dan jembatan O-glikosida (Szejtli,1997). Karena susunan seperti ini, bagian dalam dari toroidal bukanlah murni bersifat hidrofobik tapi sedikit hidrofilik terhadap lingkungan berair, sehingga dapat ditempati oleh molekul hidrofobik lainnya membentuk kompleks inklusi nonkovalen. Sedangkan permukaan luarnya, terutama sisi sekundernya cukup hidrofilik untuk memberikan kelarutan siklodesktrin (kompleksnya) di dalam air (Ainley, *et. al*, 1994; Challa, *et. al*, 2005).

Dengan sifatnya yang hidrofob atau lipofil (Painter, 1998; van Dijk, *et. al*, 2000), maka kuersetin diharapkan dapat terinklusi dalam rongga β-siklodekstrin sehingga terbentuk kompleks inklusi yang lebih polar dan larut dalam air. Menurut Zheng, *et. al*, (2005), kelarutan kuersetin ditingkatkan oleh tiga jenis β-siklodekstrin dengan urutan terbesar yaitu: Sulfobutyl eter- β-siklodekstrin > Hidroksipropil- β-siklodekstrin > β-siklodekstrin. Selanjutnya berdasarkan analisisnya dengan menggunakan spektroskopi RMI, dinyatakan bahwa cincin B, cincin C dan sebagian cincin A memperlihatkan interaksi yang baik dengan rongga hidrofobik pada ketiga senyawa di atas. Begitu juga pada katekin, cincin B masuk ke dalam rongga β-siklodekstrin dan sebagian cincin A juga terlibat dalam proses inklusi ini dimana cincin C bersifat fleksibel (Kriz, *et.al*, 2003).

β-siklodekstrin memiliki diameter rongga sebesar 6,0-6,5 Å. Sedangkan kuersetin jika dihitung secara teoritik ukuran spatial molekulnya berdasarkan gambar di atas, akan mempunyai ukuran dengan panjang 14,344 – 15,967 Å dan lebar cincin A 3,940-7,687 Å, cincin B 6,074-6,460 Å dan cincin C 2,692-5,410 Å. Dilihat dari ukuran ini, memang terlihat bahwa cincin B dan C dan sebagian cincin A dapat masuk ke dalam rongga β-siklodekstrin seperti yang dinyatakan oleh Zheng, *et. al*, 2005. Volume β-siklodekstrin menurut Szejtli (1997) adalah 262 $Å^3$, sehingga jika diameternya 6,5 Å maka dapat diperoleh tinggi rongga β-siklodekstrin yang berupa silinder sekitar 7,9 Å. Dari pehitungan ini, diperkirakan kuersetin yang masuk ke dalam rongga β-siklodekstrin adalah separuhnya yaitu dari cincin B sampai sebagian cincin C.

Peningkatan kelarutan kuersetin melalui kompleks inklusi dengan β-siklodekstrin pada konsentrasi β-siklodekstrin tertinggi 0,02 M adalah sebesar sembilan kalinya. Kecilnya peningkatan kelarutan kuersetin dalam β-siklodekstrin ini, diduga ada hubungannya dengan ukuran kuersetin seperti yang dijelaskan tadi. Namun jika dilihat dari kelarutannya yaitu sebesar 46,36 µg/mL, maka berarti belum memenuhi syarat kelarutan untuk calon obat. Menurut Wells (1988), jika kelarutan obat kecil dari 1% (10 mg/mL), maka senyawa tersebut akan memiliki masalah dalam hal absorpsi. Karena itu, dapat dinyatakan bahwa β-siklodekstrin tidak efektif digunakan dalam meningkatkan kelarutan kuersetin.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan kuersetin membentuk kompleks 1:1 dengan β-siklodekstrin dengan tetapan stabilitas kompleks 403,58 M^{-1}. Kompleks inklusi ini dapat meningkatkan kelarutan kuersetin sebanyak sembilan kalinya, namun belum efektif diaplikasikan dalam pembuatan sediaan larutan kuersetin.

Saran

Dari penelitian ini disarankan untuk menggunakan metode lain dalam peningkatan kelarutan kuersetin melalui pembentukan garam dengan senyawa basa yang tepat seperti dari golongan asam-asam amino.

Daftar Pustaka

Ainley, W & P. J. Weller. 1994. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*, Second edition. The Pharmaceutical Press, London. p: 186-189.

Anonim. 1983. *The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals and Drug*, Ninth Edition, Merck and Co., Inc, Rahway, New Tersey, USA. p: 7936.

Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi keempat. Diterjemahkan oleh Farida Ibrahim. Penerbit Universitas Indonesia (UI Press). hal 143.

Arbain, D. 2004. Dua Dekade Penelitian Kimia Tumbuhan Sumatera. *Bul. Soc. Nat. Prod. Chem.* (Indonesia). 4 : 1-12

Carstensen, J. T., 1996. Preformulation. *In* Modern Pharmaceutics. Third edition. Marcel Dekker Inc. New York. p: 213-237

Challa, R., A. Ahuja., J. Ali & R. K. Khar. 2005. Cyclodextrins in Drug Delivery: An Update Review. *AAPS PharmSciTech*. 6 (2) Artcle 43 : E329-E350.

Higuchi, T & K.A. Connors. 1965. Phase Solubility Technique. Adv. Anal Chem Instrum. Vol. 4 . p: 117-210.

Isadiartuti, D., B. Widjaja., A. Radjaram., M.A. Syamsur & D. Setyawan. 2001. Upaya Peningkatan Kelarutan Pinostrobin dengan Senyawa Inklusi β-Siklodekstrin dan Hidroksipropil β-Siklodekstrin, *Majalah farmasi Airlangga*, vo. 1. No. 3 : 31-36.

James, K. C. 1986. Solubility and Related Properties. Marcel Dekker, inc. USA. p: 36-59, 251-277.

Kriz, Z., J. Koca., A. Inverti., A. Charlot & R. Auzely-Velty. 2003. Investigation of The Complexation (+)-Catechin by β-cyclodextrin by A Combination of NMR, Microcalorimetry and Molecular Modeling Techniques. *Org. Biomol. Chem.* 1 : 2590-2595.

Lachman, L., H. A, Lieberman, H. A., & J. L. Kanig. 1989. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Edisi ketiga. Jilid 1. Diterjemahkan oleh Siti Suyatmi. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). hal. 371.

Martin, A. J., Swarbrick & A. Cammarata. 1990. *Farmasi Fisika*, Dasar-dasar Kimia Fisik dalam Ilmu Farmasetik. Jilid 1. Edisi III. diterjemahkan oleh Yoshita. Universitas Indonesia Jakarta.

NAPRALERT (SM). 1997. Biological Activities of Quercetin. Program for Collaborative Research in the Pharmaceutical Scienes, within the Departement of Medical Chemistry and Pharmacognosy, in the College of Pharmacy of the University of Illinois at Chicago.

Painter, F. M. 1998. Monograph Quercetin. *Alternative Medicine Review*. Volume 3, Number 2.

Soediro, I., K. Padmawinata, S. Soetarno & Moesdarsono, 1984. Isolasi Rutin dari Beberapa Tumbuhan Indonesia, *Laporan Penelitian*, Institut Teknologi Bandung.

Syamsuhidayat, S. D., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Depkes RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.

Szejtli, J. 1997. Utilization of Cyclodextrins in Industrial Products and Processes. *J. Mater. Chem.* 7(4). 575-587.

Van Dijk, C., A. J. M. Driessents & K. Recourt. 2000. The Uncoupling Efficiency and Affinity of Flavonoids for Vesicles. *Biochemical Pharmacology*. Vol. 60. : 1593-1600.

Wells, J. I. 1988. *Pharmaceutical Preformulation, The Physicochemical Properties of Drug Substance*, Ellis Horwood Limited, New York. p. 14-28

Yalkowsky, S. H.1981. *Techniques of Solubilization of Drugs*. Marcel Dekker, New York. p: 133-157.

Zheng, Y., I.S. Haworth., Z. Zuo., M.S. Chow & A.H. Chow. 2005. Physicochemical and Structural Characterization of Quercetin-Beta-Cyclodextrin Complexes. *J. Pharm. Sci.* 94(5): 1079-89.