



## Development of a Serum with 4-N-Butylresorcinol in The Etosome Vesicular System

Widia Primi Annissya<sup>1\*</sup>, Marline Abdassah B<sup>2</sup>, Anis Yohana Chaerunisa<sup>3</sup>

<sup>1\*),2,3</sup> Postgraduate Masters in Cosmetic Pharmacy, Universitas Padjajaran, Indonesia

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 19 March 2023  
Accepted 15 June 2023  
Published 06 July 2023

#### Keyword:

Tyrosine enzyme  
Hypopigmentation  
4-n-butylresorcinol  
Transdermal  
Vesicular Etosome

### ABSTRACT

Tyrosinase inhibition is one of the main strategies when developing new hypopigmenting agents. Based on Kolbe's research, 2013 the inhibitory effect of the tyrosinase enzyme from kojic acid, hydroquinone, arbutin and from the compound 4-n-butyl resorcinol on human tyrosinase where the results showed that 4-n-butyl resorcinol proved to be very effective as a human tyrosinase inhibitor with an IC<sub>50</sub> value of 21 μmol/L and 4-Butyl resorcinol showed 20 times stronger inhibition than kojic acid, which showed an IC<sub>50</sub> of 500 μmol/L and the maximum inhibition (89%) reached a concentration of 5.6 mmol/L. Arbutin and hydroquinone with IC<sub>50</sub> values of 6500 μmol/L for arbutin and 4400 μmol/L for hydroquinone. 4-n-butylresorcinol has instability properties and irritating effects on the skin from the compound as well as the route of topical administration, so a delivery form is needed which in addition to protecting the active ingredients, but also maintains stability so that when it passes through the skin it is easier to penetrate the stratum corneum, so that optimally absorbed to get better efficacy. The vesicular ethosomal system is able to present many advantages as a degradation-preventing agent and is able to increase penetration in the skin. Ethosomes are composed of phospholipid nanovesicle components with the ability to overcome the natural skin barrier and the capacity to deliver drugs through the skin layers. Ethosomes consist of phospholipids (20–45%), air and short-chain concentrations (generally between 20–45% ethanol) and isopropyl alcohol or propylene glycol (up to 15%).

This open access article is under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



### Kata kunci:

Enzim Tyrosine  
Hipopigmentasi  
4-n-butylresorsinol  
Transdermal  
Vesicular Etosome

#### \**corresponding author*

Widia Primi Annissya

Postgraduate Masters in Cosmetic  
Pharmacy, Universitas Padjajaran,  
Indonesia

Email: widia20003@mail.unpad.ac.id

DOI: 10.30604/jika.v8i2.2162  
Copyright 2023 @author(s)

### ABSTRAK

Penghambatan enzim tirosinase adalah salah satu strategi utama ketika mengembangkan agen hipopigmentasi baru. Berdasarkan penelitian Kolbe, 2013 efek penghambatan enzim tirosinase dari asam kojik, hidrokuinon, arbutin dan dari senyawa 4-n-butyl resorsinol pada tirosinase manusia dimana hasil penelitian menunjukkan bahwa 4-n-butyl resorsinol terbukti sangat efektif sebagai penghambat tirosinase manusia dengan nilai IC<sub>50</sub> 21 μmol/L dan 4-Butyl resorsinol menunjukkan aktivitas penghambatan 20 kali lebih kuat dari pada asam kojik, yang menunjukkan IC<sub>50</sub> 500 μmol/L dan penghambatan maksimum (89%) dicapai pada konsentrasi 5,6 mmol/L. Arbutin dan hidrokuinon dengan nilai IC<sub>50</sub> 6500 μmol/L untuk arbutin dan 4400 μmol/L untuk hidrokuinon. 4-n-butylresorsinol memiliki sifat ketidakstabilan dan efek mengiritasi pada kulit dari senyawa serta rute pemberian secara topikal, maka diperlukan suatu bentuk penghantaran yang selain dapat melindungi bahan aktif namun biasa juga menjaga kestabilan agar ketika melewati kulit lebih mudah dalam menembus bagian stratum korneum, sehingga dapat terabsorpsi optimal untuk mendapatkan efikasi yang lebih baik. Sistem vesikular etosom mampu menyajikan banyak keuntungan sebagai agen pencegah degradasi dan mampu meningkatkan penetrasi di kulit. Etosom terdiri dari komponen nanovesikel fosfolipid dengan kemampuan untuk mengatasi penghalang kulit alami dan

kapasitas untuk memberikan obat melalui lapisan kulit. Etosom terdiri dari fosfolipid (20–45%), air dan rantai pendek konsentrasi tinggi (umumnya antara 20–45% etanol) dan isopropil alkohol atau propilen glikol (hingga 15%).

This open access article is under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



## INTRODUCTION

Hyperpigmentation is a change in skin color that causes facial skin to become darker. Basically, this change occurs due to the conversion of tyrosine into dopa which is then converted into melanin with the help of the tyrosinase enzyme, resulting in excess production of melanin pigment (Huh et al., 2010).

Additional information was also obtained in a joint study of risk factors for hyperpigmentation such as sun exposure, anti-pregnancy drugs, hormone drugs, during pregnancy, contraceptive use, and post-inflammatory. In addition, in Adjie's 2011 study, tropical climate conditions in Indonesia and exposure to intense sunlight increased the incidence of hyperpigmentation. Hyperpigmentation which generally appears in women of reproductive age aged 20-45 years and occurs in residents of tropical countries. This hyperpigmentation causes aesthetic complaints that can reduce both appearance and quality of life (Lestari, et al 2011).

There were 54 cases of hyperpigmentation at Sanglah General Hospital, Denpasar, from January 2014 to December 2014, and only one male case was found. There were no cases at the age of 1-24 years and above 65 years, 59.2% of cases were found at the age of 25-44 years and 40.8% at the age of 45-64 years. Based on location 38.9% on epidermal, 11.1% on dermal found, 50% on mixed. The highest cases based on work were found in employees, namely 75.9%. Based on the pattern found 37% centofacial, 59% malar, and 4% mandibular. Looking at the history of using cosmetics, it was found that 50% had no history, 38.9% had other cosmetics, and 11.1% had cosmetics from doctors. The prevalence of hyperpigmentation in Indonesia is quite high, this is because Indonesian skin types are included in types 4 and 5 in the Fitzpatrick skin phototype which rarely burns and always tans (blackens) (Setyawati et al., 2019).

Tyrosinase inhibition is one of the main strategies when developing new hypopigmentation agents. Commercially available hypopigmentation agents include tyrosinase inhibitors as the main active ingredient. Hydroquinone, kojic acid and arbutin are used most frequently and are often used in combination with other therapies such as retinoic acid, topical corticosteroids or laser treatments to achieve a synergistic effect. However, none has shown satisfactory results (Kolbe et al., 2013).

Based on research conducted by (Kolbe et al., 2013) on the effect of inhibiting the tyrosinase enzyme from kojic acid, hydroquinone, arbutin and from the compound 4-n-butyl resorcinol on human tyrosinase where the results showed that 4-n-butyl resorcinol proved to be very effective as a human tyrosinase inhibitor with an IC<sub>50</sub> value of 21 μmol/L and 4-Butyl resorcinol showed an inhibitory activity 20 times stronger than kojic acid, which showed an IC<sub>50</sub> of 500 μmol/L and maximum inhibition (89%) was achieved at a concentration of 5.6 mmol/l. Arbutin and hydroquinone with IC<sub>50</sub> values of 6500 μmol/L for arbutin and 4400 μmol/L for hydroquinone. However, neither arbutin nor hydroquinone completely inhibited human tyrosinase.

Various treatment modalities have been tried, but none have been completely satisfactory. 4-n-butylresorcinol, which is a resorcinol derivative that has an inhibitory effect on tyrosinase and protein (Young, 2019).

4-n-butylresorcinol has the property of instability and irritating effect on the skin from the compound and the route of administration topically, so a form of delivery is needed which besides being able to protect the active ingredients but also maintains stability so that when it passes through the skin it is easier to penetrate the stratum corneum, so that can be absorbed optimally to get better efficacy (Kolbe et al., 2013).

Improving the bioavailability of topical drugs has become a major pharmaceutical goal. Although the skin appears to be an ideal target organ for therapy due to its easy access, usually not associated with increased plasma levels, gastrointestinal/enzymatic drug degradation, hepatic first-pass metabolism with both systemic toxicity and side effects, it nevertheless represents an extraordinary barrier (Patzelt and Lademann, 2020). The skin prevents penetration of most topical drugs resulting in generally low bioavailability.

The vesicular nanocarrier system is often used, because it is able to provide many advantages as a degradation-preventing agent and able to increase penetration in the skin. These advantages are a consequence of their size, elasticity and lipid content, which favor interaction with SC (Touitou & Godin, 2007).

There are various types of nanocarriers, including lipid-based, polymer-based and surfactant-based nanocarriers. Among the lipid-based nanocarriers, vesicular systems such as liposomes (consisting of a phospholipid bilayer covering an aqueous cavity), niosomes (composed by non-ionic surfactants and amphipathic compounds, which provide a neutral charge), ethosomes (consisting of phospholipids and a high concentration of alcohol), transfersomes (containing edge activators and double-chain lipids) and cubosomes (curved bicontinuous lipid bilayers arranged in three dimensions) are claimed to facilitate skin delivery, by increasing penetration and permeation through the SC in local and systemic treatments.

Etosomes are able to increase the delivery of drug molecules through the skin both *in vitro* and *in vivo* (Prasanthi and Laksmi, 2012). Etosome can significantly increase the flux value of transdermal preparations and can overcome the side effects of the drug in the form of irritation to the digestive tract when administered transdermally. When compared to other carrier vesicles, ethosomes have several advantages (Ramadon and Abdul, 2016; Akib et al., 2014)

The physicochemical properties of ethosomes can be used as a way to deliver active substances through the skin which are far superior both in quantity and depth when compared to liposomes (Ramadon & Mun'im, 2015).

Among the ethosomal vesicles represent the third generation of lipid elasticity carriers. Ethosomes consist of a phospholipid nanovesicle component with the ability to overcome the natural skin barrier and the capacity to deliver drugs through the skin layers. Ethosomes are composed of phospholipids (20–45%), water and short chains of high

concentrations (generally between 20–45% ethanol) and isopropyl alcohol or propylene glycol (up to 15%) (Niu et al., 2019).

The purpose of this journal review is to obtain modeling results of lipid nanoparticle molecules in the form of ethosomes with the model compound 4-n-butylresorcinol, to obtain a serum formulation of lipid nanoparticles in the form of ethosomes vesicular with the model compound 4-n-butylresorcinol as a whitening agent/reducing hyperpigmentation.

## METHODS

The data used in writing this journal review was collected using the literature study method. Literature searches were carried out using online-based library search instruments, such as Google, *Google Scholar*, *NCBI-PubMed*, *Research Gate* and *Elsevier*. The keywords used in the average search were “development of serum with 4-n-butylresorcinol in the vesicular system of the ethosome form”, “hyperpigmentation” “ethosomal vesicular” “transdermal ethosomes” “serum”. The literature obtained was then compiled according to the framework for Development of Serum With 4-n-Butylresorcinol in the Vesicular System in the Ethosomal Form and review of journal writing according to the format given. Based on the results of the literature study, 60 journals were obtained consisting of 40 international journals and 20 national journals which contained information regarding the development of serum with 4-n-butylresorcinol in the vesicular system in the form of ethosome.

## RESULTS AND DISCUSSION

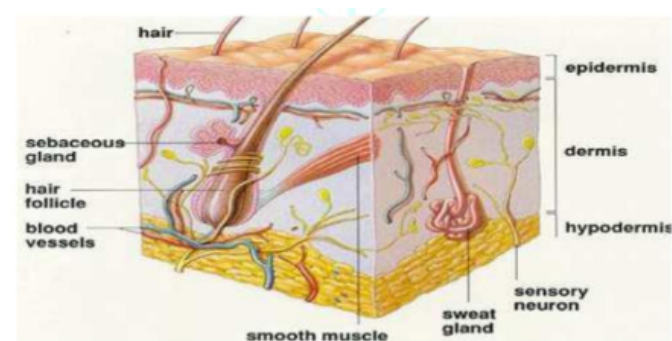
Hiperpigmentasi merupakan suatu kondisi di mana muncul bercak-bercak hitam pada kulit. Penyebabnya bisa bermacam-macam. Meski umumnya tidak berbahaya, hiperpigmentasi bisa mengganggu penampilan (Umborowati M.A, 2014). Hiperpigmentasi kulit terjadi karena tubuh memproduksi melanin dalam jumlah berlebihan, pigmen yang memberi warna kulit pada tubuh. Bercak hitam pada kulit ini umumnya dapat muncul di bagian tubuh mana pun.

Hiperpigmentasi juga bisa terjadi di seluruh tubuh. Empat jalur biologis utama menyebabkan hiperpigmentasi, yang dapat ditargetkan oleh perawatan kulit. Jalur yang paling efektif adalah dengan menekan enzim yang disebut Tyrosinase, yang sebagian bertanggung jawab untuk membuat pigmen (Becker et al., 2015).

Kulit merupakan organ eksternal berlapis-lapis yang berfungsi sebagai jaringan pelindung dan sebagai penghalang permeabilitas, mencegah penetrasi molekul asing dari lingkungan luar. Lapisan kulit terluar, yaitu stratum korneum (SC) terdiri dari korneosit, keratinosit berdiferensiasi terminal yang tidak berinti pipih, tertanam dalam domain lipid multilamellar (disebut organisasi “bata dan mortir”) dan memiliki kadar air yang rendah (10-25%) (Zhang et al., 2014).

Berbagai modalitas pengobatan telah dicoba, tetapi tidak ada yang sepenuhnya memuaskan. 4-n-butylresorcinol, yang merupakan turunan resorsinol yang memiliki efek penghambatan pada tirosinase dan protein (Young, 2019). Butylresorcinol, kadang-kadang disebut 4-n-butylresorcinol, merupakan bahan kimia yang digunakan untuk mengobati hiperpigmentasi epidermis. Hiperpigmentasi diyakini terkait

dengan enzim tirosinase yang memproduksi melanin (Huh et al., 2010).



Gambar 1. Struktur Kulit (Zahid et al., 2018)

4-n-butylresorcinol memiliki sifat ketidakstabilan dan efek mengiritasi pada kulit dari senyawa serta rute pemberian secara topikal, maka diperlukan suatu bentuk penghantaran yang selain dapat melindungi bahan aktif namun biasa juga menjaga kestabilan agar ketika melewati kulit lebih mudah dalam menembus bagian stratum korneum, sehingga dapat terabsorpsi optimal untuk mendapatkan efikasi yang lebih baik (Kolbe et al., 2013).

Stratum corneum dikenal baik sebagai penghalang utama untuk perembesan obat ke dalam lapisan kulit yang dalam dan melintasi kulit. Banyak bahan aktif hanya dapat berfungsi ketika mereka diangkut setidaknya melintasi lapisan terluar kulit ini. Namun, karena sifat penghalang SC, kemanjuran obat seringkali jauh dari yang dibutuhkan. Efisiensi berbagai agen anti-inflamasi, antibiotik, nutrisi kulit, lipolitik dan agen lainnya tergantung pada pengiriman mereka ke dalam lapisan kulit dalam. Untuk tujuan ini, pembawa dengan sifat peningkatan penetrasi kulit yang memadai diperlukan (Elsayed et al., 2006).

Pengiriman transdermal, rute alternatif untuk pengiriman obat sistemik, menawarkan liposom. Etosom dengan membran fleksibel konduktif untuk penetrasi yang dalam. Selain itu, etosom dapat melemahkan penghalang kulit, sehingga meningkatkan penetrasi SC dihasilkan dari struktur yang teratur dan permeabilitas yang rendah dari lapisan ganda lipid ini kulit untuk meningkatkan penyerapan percutan. Komposisi unik ini membuat banyak keuntungan sebagai rute pemberian obat, termasuk menghindari first-pass metabolisme, penurunan fluktuasi kadar plasma obat, kepatuhan pasien yang baik (Li et al., 2021).

Sistem etosomal merupakan pembawa vesikular lipid baru yang mengandung persentase etanol yang relatif tinggi. Nanocarrier ini dirancang khusus untuk pengiriman agen terapeutik yang efisien dengan sifat fisikokimia yang berbeda ke dalam lapisan kulit dalam dan di seluruh kulit. Etosom telah menjalani penelitian ekstensif sejak ditemukan pada tahun 1996; senyawa baru ditambahkan ke formula awal mereka, yang mengarah pada produksi jenis baru sistem etosom (Abdulbaqi et al., 2016).

Teknik preparasi yang berbeda digunakan dalam preparasi pembawa baru ini. Untuk kemudahan aplikasi dan stabilitas, dispersi ethosomal dimasukkan ke dalam serum, gel, patch, dan krim. Model in vivo yang sangat beragam digunakan untuk mengevaluasi kemanjurannya dalam pengiriman dermal/transdermal, selain uji klinis.

Review jurnal ini memberikan tinjauan rinci tentang pengembangan formulasi serum system vesicel etosom dan mengkategorikannya berdasarkan konstituennya menjadi

etosom klasik, etosom biner, dan transetosom. Perbedaan antara sistem ini dibahas dari beberapa perspektif, termasuk formulasi, ukuran, potensial (zeta potensial), efisiensi penyerapan, sifat permeasi kulit, dan stabilitas. Efek konstituen sistem etosomal, metode preparasi, dan peran signifikan mereka dalam menentukan sifat akhir dari nanocarrier ini (Bonita et al., 2013).

Kelebihan etosom dibandingkan dengan vesikel pembawa lainnya yaitu etosom dapat meningkatkan penetrasi obat melalui kulit baik untuk rute dermal ataupun transdermal (Ramadon dan Abdul, 2016; Bragagni et al., 2012). Etosom dapat menghantarkan molekul

obat dengan sifat fisikokimia yang beragam, mulai dari senyawa yang bersifat hidrofilik lipofilik, maupun makromolekul lainnya (Azzahra & Musfiroh, 2018). Komponen- pembuatan etosom terbukti aman dan disetujui FDA untuk digunakan pada sediaan farmasi dan kosmetik, umumnya etosom diformulasikan dalam bentuk sediaan patch dan semisolid (gel atau krim). Sehingga dapat meningkatkan kepatuhan pasien (Pandey et al., 2015).

Etosom mampu meningkatkan penghantaran obat pada kulit baik dalam kondisi oklusif dan non-oklusif (Wahid et al., 2011), ukuran etosom relatif lebih kecil dibandingkan vesikel obat konvensional, etosom dapat meningkatkan permeasi obat karena dapat membawa obat melewati stratum korneum menuju lapisan kulit yang lebih dalam (Salmannejad et al., 2015; Gaikwad dan Ayushi, 2017), etosom dapat diformulasikan dengan mudah dan tidak memerlukan peralatan canggih atau peralatan yang dirancang khusus (Bonita et al., 2013)

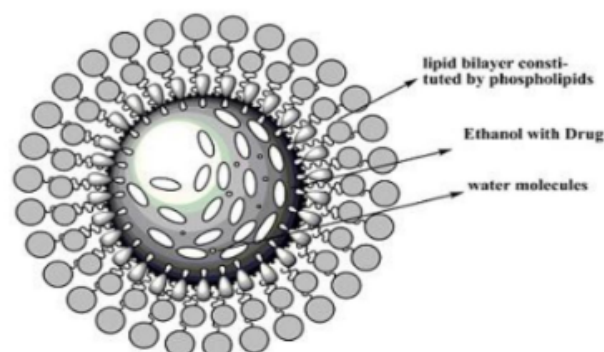
## KOMPONEN ETOSOM

Etosom menunjukkan lapisan ganda lipid seperti liposom; namun mereka berbeda dari liposom dalam komposisi (kandungan etanol yang tinggi). Etosom tersusun atas hidroalkohol atau hidro/glikolikfosfolipid yang konsentrasi alkoholnya relatif tinggi. Etosom mungkin mengandung fosfolipid dengan berbagai struktur kimia seperti fosfatidilkolin, asam fosfatidat, fosfatidilserin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil gliserol, fosfatidil inositol, alkohol (etanol atau isopropil alkohol), air dan propilen glikol (atau glikol lainnya). Beberapa fosfolipid yang disukai seperti struktur kulit Fosfolipon 90 (PL-90). biasanya digunakan dalam kisaran 0,5-10% b/b. Kolesterol pada konsentrasi berkisar antara 0,1-1% juga dapat ditambahkan ke dalam sediaan (Zahid et al., 2018).

Komponen utama etosom adalah fosfolipid, etanol dan air, dengan konsentrasi etanol yang relatif tinggi. Etosom dapat mengandung fosfolipid dengan berbagai struktur kimia (seperti fosfatidilkolin dan asam fosfatidat), etanol atau isopropil alkohol, air dan propilen glikol (atau glikol lainnya). Selain itu, surfaktan non-ionik (PEG-alkil eter) dan lipid kationik dapat dikombinasikan dengan fosfolipid dalam sediaan. Konsentrasi fase tidak berair (alkohol dan kombinasi glikol) dapat berkisar antara 22 hingga 70% (Annisa, 2020).

Etosom adalah bentuk dari liposom yang dapat digunakan karena adanya penambahan etanol sebagai sebagai bahan pembuatannya. Etosom diketahui dapat menembus kulit dan meningkatkan pengiriman senyawa ke lapisan kulit terdalam (Zahid et al., 2018). Struktur yang dimiliki etosom yaitu suatu vesikel lipid bilayer yang memiliki suatu celah pada bagian inti (Ramadon & Mun'im, 2015). Komponen penting dalam pembuatan etosom yaitu fosfolipid, alkohol dan udara. Alkohol yang umum digunakan adalah etanol. Konsentrasi etanol yang digunakan pada pembuatan etosom ini relatif

tinggi yaitu pada rentang 20% hingga 45% (Shelke & Kulkarni, 2018). Fosfolipid bertindak sebagai sedangan komponen pembentuk vesikel etanol sebagai peningkat penetrasi (Tiwari et al., 2018).

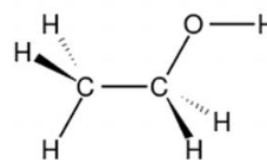


Gambar 2. Struktur Etosome (Zahid et al., 2018)

## ETANOL

Etanol dalam etosom berfungsi sebagai zat yang membuat membran vesikel menjadi halus dan juga sebagai peningkat penetrasi (Jaiswal et al., 2016). Sebagai peningkat penetrasi, etanol akan membasahi lapisan ganda lipid dari vesikel etosom dan stratum korneum secara bersamaan, sehingga vesikel etosom yang sangat lunak akan menembus struktur stratum korneum (Abdulbaqi et al., 2016).

Etanol digunakan sebagai zat yang mampu meningkatkan penetrasi obat-obatan ke dalam kulit dan sistem penghantaran obat transdermal merupakan cara yang lebih efektif pemberian obat melalui kulit (Handayani & Kautsar, 2018).

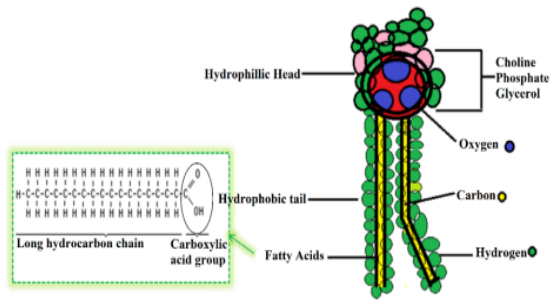


Gambar 3. Struktur Etanol (Wusnah et al., 2019)

## FOSFOLIPID

Studi struktur fosfolipid penting karena relevansinya dalam ilmu kesehatan, pengembangan penghantaran obat. Fosfolipid menjaga integritas sel atau organel dengan membentuk penghalang semipermeabel yang memisahkan mereka dari lingkungan luarnya. Membran sel dengan fosfolipid umumnya terdiri dari asam lemak jenuh (Alagumuthu et al., 2019).

Asam lemak ini memiliki struktur yang berbeda dan fluiditas yang lebih sedikit yang memungkinkan mereka untuk berintegrasi dengan asam lemak esensial. Fosfolipid mengandung satu asam lemak jenuh dan satu asam lemak tak jenuh yang terhubung ke kepala gliserol. Kepala fosfolipid bersifat hidrofilik, sedangkan ekor bersifat hidrofobik. Pada membran bilayer, bagian hidrofobik molekul terjepit di tengah, sedangkan bagian hidrofilik membentuk permukaan bilayer.



Gambar 4. Struktur umum dan konstituen fosfolipid (Alagumuthu et al., 2019)

Fosfolipid dalam etosom berfungsi sebagai komponen pembentuk vesikel (Jaiswal et al., 2016). Fosfolipid juga dilaporkan bertindak secara sinergis dengan etanol untuk meningkatkan permeasi obat dalam formulasi etosom (Abdulbaqi et al., 2016). Beberapa contoh fosfolipid yang biasa digunakan dalam pembuatan etosom antara lain asam fosfatidat.

## POLIGLIKOL

Poliglikol biasa ditambahkan dalam pembuatan etosom, tetapi sangat jarang. Jika ditambahkan ke dalam etosom, poliglikol berfungsi sebagai zat peningkat penetrasi pada kulit. Contoh poliglikol yaitu propilen glikol dan dietilen glikol monoetil eter (Jaiswal et al., 2016 ; (Andriani et al., 2021).

## METODE PREPARASI ETOSOM

Etosom dapat disiapkan dengan beberapa metode diantaranya metode dingin dan metode panas adalah dua metode konvensional yang digunakan untuk preparasi etosom. Berikut adalah metode preparasi etosom:

### 1) Metode Dingin

Larutkan fosfolipid dan bahan lipid lainnya dalam etanol dalam wadah tutup pada suhu kamar dengan pengadukan yang kuat. Tambah propilenglikol atau poliol lainnya selama pengadukan. Panaskan campuran hingga 30°C di penangas udara. Panaskan air hingga 30°C dalam wadah terpisah dan tambahkan ke dalam campuran di atas secara perlahan dalam aliran yang halus. Obat dapat dilarutkan dalam air atau etanol tergantung pada sifat hidrofilik/hidrofobiknya. Lanjutkan pengadukan selama 5 menit dan dinginkan suspensi vesikel yang dihasilkan pada suhu kamar. Ukuran vesikel formulasi etosomal dapat dimodulasi sesuai keinginan menggunakan metode sonikasi atau ekstrusi. Akhirnya, formulasi harus disimpan di bawah pendingin (Rakesh & Anoop, 2012).

### 2) Metode Panas

Metode ini diawali dengan mendispersikan fosfolipid ke dalam air dengan cara memanaskannya dalam waterbath pada suhu 40°C hingga diperoleh cairan koloid. Pada bejana yang terpisah, etanol dan propilenglikol dicampur dan dipanaskan hingga 40°C. Kedua campuran dicampur pada suhu 40°C (fase organik ditambahkan ke fase air). Setelah itu zat aktif dilarutkan dalam air atau etanol, tergantung pada sifat hidrofilik/hidrofobiknya. Ukuran vesikel formulasi etosom dapat diturunkan sesuai keinginan menggunakan metode sonikasi (Mohanty et al., 2018). Setelah melakukan sonikasi, dapat dilakukan homogenisasi dengan tekanan

tinggi untuk mendapatkan etosom yang berukuran nanometer (Int et al., 2015).

### 3) Metode Optimasi

Metode optimasi untuk preparasi etosom diawali dengan melarutkan fosfolipid dalam campuran pelarut kloroform: metanol dengan perbandingan 3:1 di dalam labu alas bulat kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator di atas suhu transisi lipid yaitu di atas 60°C dan kecepatan 600 rpm selama 30 menit. Lapisan film tipis akan terbentuk kemudian hidrasi lapisan dengan fosfat buffer saline (pH 7.4) atau campuran hidroetanol (1% b/v) pada 60 rpm selama 1 jam. Selanjutnya sonikasi campuran dalam 3 siklus selama 5 menit. Jika proses sonikasi telah selesai, formula dimasukkan ke dalam dan disimpan pada suhu 4°C (Jaiswal et al., 2016; Sultana et al., 2018).

### 4) Metode Injeksi

Preparasi etosom menggunakan metode ini diawali dengan melarutkan fosfolipid dan obat ke dalam etanol dan propilen glikol hingga terbentuk vesikel kemudian dipanaskan campuran pada suhu 30°C dalam waterbath. Campuran ditambahkan air sedikit demi sedikit dan diaduk dengan kecepatan 700 rpm selama 5 menit pada suhu 30°C. Dilakukan sonikasi sebanyak 3 siklus selama 5 menit, istirahat pada setiap siklus. Formula dimasukkan ke dalam dan disimpan pada suhu 4°C (Kumar Jaiswal et al., 2016).

### 5) Metode Klasik

Larutkan fosfolipid dalam pelarut organik atau campuran organik dalam labu alas bulat (RBF). Hapus pelarut menggunakan evaporator organik vakum rotor di atas suhu transisi lipid untuk membentuk lapisan lipid tipis di dinding RBF. Jejak pelarut harus dihilangkan dari lapisan lipid yang disimpan dengan membiarkannya di bawah tiduran. Lipid film hidrasi dengan solusi obat hidroetanol dengan memutar labu pada suhu yang sesuai dengan atau tanpa sonikasi intermiten dan akhirnya, dinginkan suspensi etosom yang dihasilkan pada suhu kamar. Formula harus disimpan di bawah pendingin (Kumar Jaiswal et al., 2016).

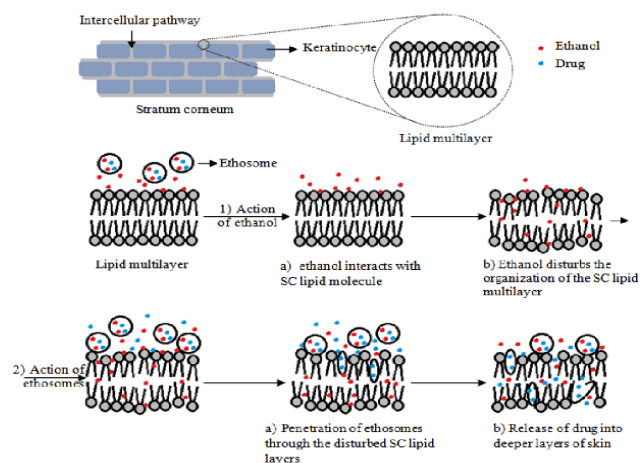
## MEKANISME PENETRASI ETOSOM PADA KULIT

Kulit adalah organ tubuh terbesar dan paling mudah diakses; itu berfungsi sebagai rute potensial pemberian obat untuk efek sistemik. Namun, lapisan luar kulit, stratum korneum, merupakan penghalang yang paling tahan terhadap penetrasi obat di kulit, yang membatasi bioavailabilitas obat secara transdermal. Oleh karena itu, pembawa khusus diperlukan untuk memerangi penghalang kulit alami untuk mengantarkan molekul obat dengan sifat fisikokimia yang berbeda ke sirkulasi sistemik (Abdulbaqi et al., 2016).

Sistem penghantaran rute transdermal sekarang menjadi salah satu inovasi penelitian yang paling sukses dalam sistem penghantaran obat dibandingkan dengan pengobatan oral, berdasarkan evaluasi klinis yang berkaitan dengan sistem transdermal atau dermal sekitar 40% produk memiliki efikasi yang bagus. Keberhasilan obat dermatologis yang akan digunakan untuk pengiriman obat sistemik bergantung pada kemampuan obat untuk menembus kulit dalam jumlah yang cukup untuk mencapai efek terapeutik yang diinginkan (Handayani & Kautsar, 2018).

Dilihat dari komponen etosom dapat dijelaskan mekanisme kerja komponennya dengan salah satunya penambahan peningkat penetrasi kimia dengan satu atau lebih dari tiga mekanisme yaitu mengganggu struktur

stratum corneum lipid yang sangat teratur, interaksi dengan protein interselular, dan memperbaiki partisi obat, co-enhancer atau pelarut ke dalam stratum korneum (Pathan, et al, 2009; (Handayani & Kautsar, 2018)



**Gambar 5. Mekanisme penetrasi pengiriman obat dengan sistem ethosomal pada kulit (Rakesh & Anoop, 2012)**

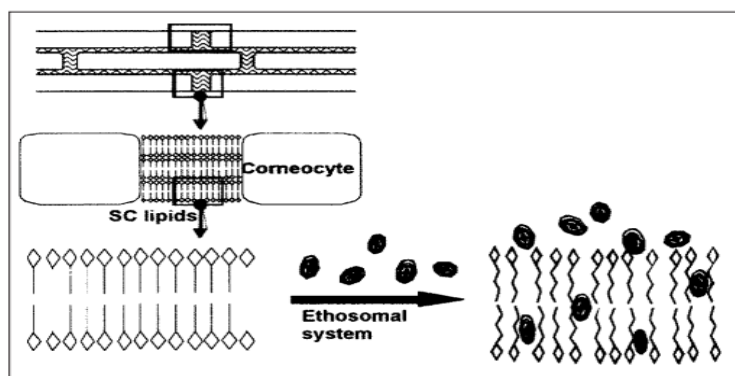
Banyak mekanisme telah disarankan oleh para peneliti untuk meningkatkan potensi pengiriman kulit dari etosom. Proses pengiriman obat yang tepat oleh etosom tetap menjadi spekulasi, kemungkinan besar, kombinasi proses berkontribusi pada efek peningkatan. Ketika pembawa ethosomal, yang mengandung konsentrasi etanol tinggi diterapkan pada kulit sejumlah proses bersamaan dapat

terjadi, yang melibatkan jalur stratum korneum dan pilosebaceous (Zhang et al., 2014).

Peningkatan permeasi dari etosom jauh lebih besar daripada yang diharapkan dari etanol saja atau dari liposom konvensional, menunjukkan beberapa jenis mekanisme sinergis antara etanol, vesikel dan lipid kulit. Diperkirakan bahwa bagian pertama dari mekanisme ini disebabkan oleh 'efek etanol'. Etanol telah lama dikenal memiliki sifat meningkatkan permeasi dan mengganggu organisasi lapisan ganda lipid stratum korneum, meningkatkan fluiditas lipidnya dan menurunkan densitas multilayer lipid, yang menghasilkan peningkatan permeabilitas membrane (Rakesh & Anoop, 2012).

Etanol juga seharusnya mengekstrak lipid stratum korneum sehingga fungsi penghalang stratum korneum. Selanjutnya, etanol dapat bertindak sebagai agen 'pencampur' untuk vesikel lipid dengan meningkatkan distribusinya di berbagai lapisan kulit. Ini diikuti oleh 'efek etosom', di mana vesikel etosom fleksibel berinteraksi dengan lapisan ganda stratum korneum yang terganggu dan bahkan membentuk jalur penetrasi melalui kulit berdasarkan sifat partikelnya. Pelepasan obat di lapisan dalam kulit dan penyerapan transdermalnya kemudian bisa menjadi hasil fusi etosom dengan lipid kulit (Rakesh & Anoop, 2012).

Etanol biasanya digunakan sebagai kosolven dengan air untuk memastikan kondisi sink selama percobaan permeasi in vitro. Dengan air, etanol menembus dengan cepat melalui kulit manusia dengan fluks steady state kira-kira 1 mg.cm<sup>2</sup> /jam. Etanol telah digunakan untuk meningkatkan fluks levonorgestrel, estradiol, hidrokortison, dan 5-fluorouracil melalui kulit tikus dan estradiol melalui kulit manusia in vivo (Mathur, et al., 2010).



**Gambar 6. Mekanisme peningkatan permeasi ethosomal melintasi penghalang lipid SC (Touitou et al., 2000)**

Fosfolipid Sebagian besar asam lemak dan esternya telah digunakan sebagai peningkat penetrasi kimia penetrasi. Secara umum asam lemak tak jenuh lebih efektif dalam meningkatkan penyerapan obat per kutan daripada asam lemak jenuh. Model peningkatan penetrasi yang diusulkan melalui penghalang SC didasarkan pada efek fluidisasi ganda etanol pada lapisan ganda lipid SC dan vesikel fosfolipid bilayer. Vesikel lunak menembus ke dalam dan melintasi bilayer lipid SC yang terganggu, mendorong pengiriman agen aktif di bawah penghalang SC (Gambar 4).

Etosom menembus lapisan ganda SC terfluidisasi menghasilkan lorong melintasi lipid SC dan menyatu dengan membran sel di lapisan kulit yang lebih dalam di mana mereka melepaskan muatannya. Urutan proses sinergis yang

diusulkan ini juga dikonfirmasi dalam in vitro dan in vivo studi pengiriman kulit.

Pada penelitian (Touitou & Godin, 2007) dalam *study confocal laser scanning microscopy* (CLSM) ditunjukkan bahwa FITC-Bac memberikan in vivo dari etosom, menembus kulit tikus melalui jalur antar-korneosit, yang biasanya ada di sepanjang domain lipid dari stratum korneum. Sebaliknya, pewarnaan fluoresensi yang secara signifikan lebih rendah dari jalur penetrasi antar sel dan tidak ada fluoresensi antar atau intra-corneocyte yang diamati dengan larutan hidroetanol FITC-Bac dan liposom, masing-masing. Perlu diketahui bahwa mekanisme dimana sistem ethosomal meningkatkan pengiriman obat ke dalam dan di seluruh kulit berbeda dari cara kerja vesikel lipid lainnya. Penemu vesikel ultradeformable, transfersomes, mengklaim dan

membuktikan bahwa pembawa ini melintasi seluruh kulit dan diserap ke dalam sirkulasi sistemik. Karena perlakuan ini, etosom dapat cocok terutama untuk pengiriman senyawa secara transdermal.

### METODE KARAKTERIASASI ETOSOM

Dalam karakterisasi etosom terdapat beberapa metode, diantaranya:

- 1) Bentuk dan ukuran vesikel, bentuk vesikel dapat ditentukan secara visual menggunakan SEM (Scanning Electron Microscopy) dan TEM (Transmission Electron Microscopy) dan distribusi ukuran partikel dapat ditentukan menggunakan metode Dynamic Light Scattering dan spektroskopi korelasi foton.
- 2) Potensi Zeta, menggunakan zeta meter untuk menentukan permukaan partikel yang digunakan untuk memprediksi stabilitas etosom (Grace, et al, 2014).
- 3) Efisiensi jerapan Obat, dapat diukur dengan teknik ultrasentrifugasi, kolom sentrifugasi kecil dan juga spektrofotometer floresensi. Evaluasi fisikokimia berupa organoleptik, homogenitas, pH dan viskositas etosom gel dan rheologinya diukur (Grace et al, 2014).
- 4) Turbiditas, dapat diukur dengan nephelometer (Rakesh, 2012).
- 5) Interaksi vesikel dan kulit, dapat menggunakan confocal laser scanning microscopy, mikroskopi floresensi, TEM, dan Eosin Hematoxylin Staining untuk menentukan interaksi vesikel dan kulit, permeasi dan penetrasi obat menembus kulit.
- 6) Interaksi fosfolipid dan etanol, dapat ditentukan dengan <sup>31</sup>P-NMR dan dengan metode Differential Scanning Colorimetric. Deformabilitas, diukur melalui metode ekstrusi (Grace et al, 2014).
- 7) Pelepasan obat, secara in vitro dapat dilakukan dengan difusi sel Franz dengan membran artifisial atau biologis atau dapat dengan metode dialysis bag diffusion.
- 8) Kandungan obat, ditentukan dengan metode HPLC.
- 9) Pengukuran aktivitas tegangan permukaan, diukur dengan Du nuoy Ring Tensiometer untuk larutan berbasis air (Grace et al, 2014). Stabilitas Etosom, dievaluasi berdasarkan efisiensi jerapan dan ukuran partikel, hal ini bergantung pada komposisi fosfolipid pada etosom (Sheo et al, 2010).

**Tabel 1 : Metode Untuk Karakterisasi Formulasi Ethosomal (Rakesh & Anoop, 2012)**

Parameter	Metode/Peralatan
Bentuk Vesikel dan Morfologi Permukaan	Pemindaian mikroskop electron (SEM) Mikroskop electron transmisi (TEM)
Ukuran vesikel dan potensi zeta	Teknik hamburan cahaya Metode ultrasentrifugasi
Efisiensi jebakan	Kromatografi gel ukuran-pengecualian Metode dialysis
Permeasi kulit in vitro dan deposisi kulit	Sel difusi Franz Sel difusi berdampingan Sel difusi keshry-chien CLSM (Mikroskop pemindaian laser) Pemindaian mikroskop electron (SEM) Mikroskop electron transmisi (TEM)
Penetrasi kulit in vitro	Mikroskop fluoresensi <sup>31</sup> P NMR
Interaksi vesikel kulit	Kalorimetri pemindaian diferensial (DSC) Kalorimetri pemindaian diferensial (DSC) Metode ekstrusi

Interaksi fosfolipid-etanol	Nefelometri Teknik hamburan cahaya dinamis (DLS) Mikroskop electron transmisi
Suhu transisi lipid (Sistem vesicular)	
Tingkat deformabilitas	
Kekeruhan	
Stabilitas vesikel	

### PENGEMBANGAN SEDIAAN SERUM DALAM SISTEM VESIKULAR ETOSOM

Peningkatan bioavailabilitas obat topikal telah menjadi tujuan farmasi utama. Meskipun kulit tampaknya merupakan organ target terapi yang ideal karena mudah diakses, biasanya tidak terkait dengan peningkatan kadar plasma, degradasi obat gastrointestinal/enzimatis, metabolisme lintas pertama di hati baik dengan toksisitas sistemik dan efek samping, namun kulit merupakan penghalang yang luar biasa (Patzelt dan Lademann, 2020). Kulit mencegah penetrasi sebagian besar obat topikal yang mengakibatkan bioavailabilitas rendah secara umum (Costa et al., 2021).

Draeos mempersiapkan etosom dalam formulasi sediaan serum gel, dan menyelidiki potensi pengiriman transdermal yang ditingkatkan. Serum merupakan sediaan dengan viskositas yang rendah menghantarkan zat aktif melalui permukaan kulit dengan membentuk lapisan film tipis yang mengandung bahan akan lebih banyak dan sedikit kandungan sehingga memiliki kecenderungan konsentrat (Draeos, 2010).

Serum sebenarnya merupakan istilah komersial dalam kosmetik untuk jenis sediaan yang memiliki komponen bioaktif lebih banyak. Teknologi pembuatan serum yang digunakan dalam penelitian ini merupakan teknologi dalam pembuatan gel (Nazilah, 2018).

Yan Zhou et al (2010) menyiapkan etosom biner yang mengandung alkaloid total yang diekstraksi dari *Sophora alopecuroides* (TASA) menggunakan metode pemuatan aktif gradien pH transmembran baru pada suhu di bawah suhu transisi fase fosfatidil kolin. Etosom biner TASA dikarakterisasi untuk bentuk, ukuran vesikel, dan efisiensi enkapsulasi.

### EVALUASI SEDIAAN SERUM ETOSOM SEBAGAI AGEN HIPOPIGMENTASI

#### 1) Pengamatan Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan terhadap sediaan meliputi pengamatan terhadap bentuk, tekstur, warna dan bau, yang bertujuan untuk melihat perubahan tampilan fisik sediaan. Pengamatan dilakukan dalam 3 siklus secara freeze thaw dalam penyimpanan, dimana setiap siklusnya terdiri dari penyimpanan sediaan pada suhu dingin (4°C) selama 24 jam, dilanjutkan disimpan pada suhu kamar (24°C) selama 24 jam, dan kemudian disimpan pada suhu tinggi (40°C) juga selama 24 jam, siklus berikutnya mengikuti urutan yang sama. sediaan yang tidak mengalami perubahan signifikan dinyatakan stabil.

#### 2) Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya butiran kasar dari sediaan yang ditimbang sebanyak

0,1 gram dan dioleskan merata dan tipis pada kaca transparan (Inui Kishi et al., 2018).

### 3) Pemeriksaan pH

Semua sediaan emulgel diamati perubahan pH nya pada hari penyimpanan 3 siklus freeze thaw, menggunakan pH meter (Mettler Toledo). Semua sediaan serum tersebut terlebih dulu diencerkan menggunakan aquadest 10 mL, lalu indikator pada alat pH meter dicelupkan ke dalam sediaan emulgel, hingga menunjukkan angka yang stabil. Sediaan yang memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam rentang 4,5-6,8 (Sari et al., 2015).

### 4) Pengukuran Viskositas

Semua sediaan serum diamati perubahan viskositas atau kekentalannya pada hari penyimpanan selama 3 siklus freeze thaw, menggunakan alat viskotester Brookfield. Spindel dari alat ini dicelupkan ke dalam sediaan dalam wadah skala yang tertera pada alat (Apolinário et al., 2021).

### 5) Uji Daya Sebar dan Ketersebaran

Uji daya sebar mempunyai tujuan untuk menjamin meratanya penyebaran sediaan dan kelunakan sediaan untuk dioleskan pada kulit. Dengan cara menimbang sediaan serum seberat 1 gram kemudian diletakkan di tengah kaca berskala. Di atas sampel diletakkan kaca lain dan dibiarkan 1 menit. Dicatat diameter penyebarannya sebagai diameter awal. Kemudian ditambahkan pemberat sehingga berat kaca dan pemberat 125 gram. Dicatat diameter penyebaran sebagai diameter akhir. Daya sebar serum yang baik adalah 5-7 cm dimana pada rentang tersebut menunjukkan konsistensi yang nyaman dalam penggunaan. Ketersebaran yang baik adalah 25-49 g.cm.det<sup>-1</sup> dan dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Ketersebaran} = \frac{M \times L}{T}$$

M= massa beban (gram)

L = Diameter area penyebaran (cm)

T = Waktu yang dibutuhkan untuk pemisahan kaca (detik).

### 6) Stabilitas Vesikel dalam serum

Serum yang mengandung transethosom disimpan dalam 3 siklus freeze thaw dievaluasi pada ukuran partikel, distribusi partikel dan zeta potensial untuk menentukan stabilitasnya (Murti S.B., et al., 2013).

## CONCLUSIONS

Penggunaan etosom dalam bentuk formulasi serum terbukti dapat meningkatkan penetrasi, permeabilitas dan bioavailabilitas dari zat aktif yang memiliki karakteristik sulit untuk menembus *stratum corneum*. 4-n-butylresorsinol bias di gunakan sebagai agen hiperpigmentasi karena efek terapetiknya lebih signifikan dibandingkan hydroquinone, asam kojik dan retinol. Pengembangan sistem penghantaran obat berbasis etosom untuk dalam bentuk sediaan serum masih terus dikembangkan dan diteliti lebih lanjut.

## Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest in this study.

## REFERENCES

- Abdulbaqi, I. M., Darwis, Y., Khan, N. A. K., Assi, R. A., & Khan, A. A. (2016). Ethosomal nanocarriers: The impact of constituents and formulation techniques on ethosomal properties, in vivo studies, and clinical trials. *International Journal of Nanomedicine*, *11*, 2279–2304. <https://doi.org/10.2147/IJN.S105016>
- Alagumuthu, M., Dahiya, D., & Singh Nigam, P. (2019). Phospholipid—the dynamic structure between living and non-living world; a much obligatory supramolecule for present and future. *AIMS Molecular Science*, *6*(1), 1–19. <https://doi.org/10.3934/molsci.2019.1.1>
- Andriani, R., Jubir, I., Aspadih, V., & Fristiohady, A. (2021). Review Jurnal: Pemanfaatan Etosom Sebagai Bentuk Sediaan Patch. *Farmasains: Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*, *8*(1), 45–57. <https://doi.org/10.22236/farmasains.v8i1.5386>
- Annisa, V. (2020). Review Artikel: Metode untuk Meningkatkan Absorpsi Obat Transdermal. *Journal of Islamic Pharmacy*, *5*(1), 18. <https://doi.org/10.18860/jip.v5i1.9157>
- Apolinário, A. C., Hauschke, L., Nunes, J. R., Lourenço, F. R., & Lopes, L. B. (2021). Design of multifunctional ethosomes for topical fenretinide delivery and breast cancer chemoprevention. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *623*(February), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126745>
- Azzahra, L., & Musfiroh, I. (2018). Etosom sebagai Penghantar Obat Herbal Hidrofilik. *Majalah Farmasetika*, *3*(4), 85. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v3i4.23483>
- Becker, F. G., Cleary, M., Team, R. M., Holtermann, H., The, D., Agenda, N., Science, P., Sk, S. K., Hinnebusch, R., Hinnebusch A, R., Rabinovich, I., Olmert, Y., Uld, D. Q. G. L. Q., Ri, W. K. H. U., Lq, V., Frxqwu, W. K. H., Zklfk, E., Edvhg, L. V, Wkh, R. Q., ... )2015. (فاطمى, ج). No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析 Title. *Syria Studies*, *7*(1), 37–72. [https://www.researchgate.net/publication/269107473\\_What\\_is\\_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civil\\_wars\\_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625](https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civil_wars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625)
- Bonita, N., Fitrianti, D., & Sani, E. P. (2013). Kajian Pustaka Sistem Penghantaran Etosom untuk Senyawa Bahan Alam yang Berkhasiat Antioksidan. *Prosiding Farmasi*, 320–325.
- Costa, C., Fernandes, B., Guimarães, D., Nogueira, E., Martins, M., Matamá, T., & Cavaco-Paulo, A. (2021). Comparing the delivery to the hair bulb of two fluorescent molecules of distinct hydrophilicities by different nanoparticles and a serum formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, *602*(March), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120653>
- Elsayed, M. M. A., Abdallah, O. Y., Naggar, V. F., & Khalafallah, N. M. (2006). Deformable liposomes and ethosomes: Mechanism of enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, *322*(1–2), 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.05.027>
- Handayani, R., & Kautsar, A. P. (2018). Strategi Baru Sistem Penghantaran Obat Transdermal Menggunakan Peningkat Penetrasi Kimia. *Farmaka*, *15*(3), 24–36.
- Huh, S. Y., Shin, J. W., Na, J. I., Huh, C. H., Youn, S. W., & Park, K. C. (2010). The efficacy and safety of 4-n-butylresorcinol 0.1% cream for the treatment of melasma: A randomized controlled split-face trial. *Annals of Dermatology*, *22*(1), 21–25. <https://doi.org/10.5021/ad.2010.22.1.21>

- Int, J., Life, P., Thadanki, M., & Babu, A. K. (2015). *Review on Ethosomes: A novel approach of Liposomes* © Sakun Publishing House ( SPH ): *IJPLS*, 6(1), 4171–4176.
- Inui Kishi, R. N., Stach-Machado, D., Singulani, J. de L., dos Santos, C. T., Fusco-Almeida, A. M., Cilli, E. M., Freitas-Astúa, J., Picchi, S. C., & Machado, M. A. (2018). Evaluation of cytotoxicity features of antimicrobial peptides with potential to control bacterial diseases of citrus. *PLOS ONE*, 13(9), e0203451. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203451>
- Jain, S., Tiwary, A.K, Sapra, B., dan Jain, N.K., (2007): Formulation and evaluation of ethosomes for transdermal delivery of lamivudine, *AAPS Pharm Sci Tech*, 8(4), E111.
- Jufri, Mahdi, (2004): Arah dan Perkembangan Liposom Drugs Delivery System, Majalah Ilmu Kefarmasian, Departemen Farmasi, FMIPA Universitas Indonesia, Depok, **Vol. I** (2).
- Katagtri, T., Okubo, T., Oyobikawa, M., Futaki, K., Shaku, M., Kawai, M., (1998): Novel melanogenic enzymes inhibitor for controlling hyperpigmentation, Proceedings 20th IFSCC International Congress, Cannes, France 14–18 September 1998, **39**, 1–11.
- Khatib, S., Nerya, O., Musa, R., Tamir, S., Peter, T., Vaya, J., (2007) : Enhanced substituted resorcinol hydrophobicity augments tyrosinase inhibition potency, *J. Med. Chem.*, **50** (11), 2676–2681.
- Kim, D-S., Kim, S-Y., Park, S-H., Choi, Y-G., Kwon, S-B., Kim, M-K., Na, J-I., Youn, S-W., dan Park, K-C., (2005): Inhibitory Effects of 4-*n*-Butylresorcinol on Tyrosinase Activity and Melanin Synthesis, *Biol.Pharm. Bull.*, **28**(12), 2216–2219.
- Kolbe, L., Mann, T., Gerwat, W., Batzer, J., Ahlheit, S., Scherner, C., Wenck, H., & Stäb, F. (2013). 4-N-Butylresorcinol, a Highly Effective Tyrosinase Inhibitor for the Topical Treatment of Hyperpigmentation. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 27(SUPPL. 1), 19–23. <https://doi.org/10.1111/jdv.12051>
- Kumar Jaiswal, P., Kesharwani, S., Kesharwani, R., & Patel, D. K. (2016). Journal of Drug Delivery and Therapeutics An International Peer Reviewed Journal Open access to Pharmaceutical and Medical research ETHOSOME: A NEW TECHNOLOGY USED AS TOPICAL & TRANSDERMAL DELIVERY SYSTEM. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 6(3), 7–17. <http://jddtonline.info>
- Li, Y., Xu, F., Li, X., Chen, S. Y., Huang, L. Y., Bian, Y. Y., Wang, J., Shu, Y. T., Yan, G. J., Dong, J., Yin, S. P., Gu, W., & Chen, J. (2021). Development of curcumin-loaded composite phospholipid ethosomes for enhanced skin permeability and vesicle stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 592. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119936>
- Nazilah, S. A. (2018). Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Serum Gel Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Raja (Musa Paradisiaca L.). *Universitas Muhammadiyah Purwokerto*, 2016, 4–18. <http://repository.ump.ac.id/9039/1/>
- Niu, X. Q., Zhang, D. P., Bian, Q., Feng, X. F., Li, H., Rao, Y. F., Shen, Y. M., Geng, F. N., Yuan, A. R., Ying, X. Y., & Gao, J. Q. (2019). Mechanism investigation of ethosomes transdermal permeation. *International Journal of Pharmaceutics: X*, 7(July), 100027. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2019.100027>
- Rakesh, R., & Anoop, K. R. (2012). Ethosomes for transdermal and topical drug delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(SUPPL.3), 17–24.
- Ramadon, D., & Mun' im, A. (2015). Pemanfaatan Nanoteknologi dalam Sistem Penghantaran Obat Baru untuk Produk Bahan Alam. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(2), 118–127.
- Sari, D. K., Sugihartini, N., & Yuwono, T. (2015). Evaluasi Uji Iritasi Dan Uji Sifat Fisik Sediaan Emulgel Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*). *Pharmaciana*, 5(2), 115–120. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i2.2493>
- Setyawati, N. kadek, Indira, I. G. A. A. E., & Puspawati, N. M. D. (2019). Insiden dan Profil Melasma di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Periode Januari 2014 sampai Desember 2014. *E-Jurnal Medika*, 8(2), 1–7.
- Toutitou, E., Dayan, N., Bergelson, L., Godin, B., & Eliaz, M. (2000). Ethosomes - Novel vesicular carriers for enhanced delivery: Characterization and skin penetration properties. *Journal of Controlled Release*, 65(3), 403–418. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00222-9](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00222-9)
- Toutitou, E., & Godin, B. (2007). Ethosomes for skin delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 17(5), 303–308. [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(07\)50046-8](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(07)50046-8)
- Umborowati M.A, R. (2014). Studi Retrospektif: Diagnosis dan Terapi Pasien Melasma. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin*, 26(1), 56–61.
- Wusnah, W., Bahri, S., & Hartono, D. (2019). Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* B.C) secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 8(1), 48. <https://doi.org/10.29103/jtku.v8i1.1915>
- Yang, S. B., Liu, C. M., Liu, W., Yu, H., Zheng, H. J., Zhou, W., & Hu, Y. (2013). Preparation and characterization of nanoliposomes entrapping medium-chain fatty acids and vitamin C by lyophilization. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms141019763>
- Zahid, S. R., Upmanyu, N., Dangi, S., Ray, S. K., Jain, P., & Parkhe, G. (2018). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics Ethosome: a novel vesicular carrier for transdermal drug delivery*. 6(6), 318–326.
- Zhang, Y. T., Shen, L. I. N. A., Wu, Z. H., Zhao, J. I. H., & Feng, N. P. (2014). Evaluation of skin viability effect on ethosome and liposome-mediated psoralen delivery via cell uptake. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(10), 3120–3126. <https://doi.org/10.1002/jps.24096>

