



**UJI STABILITAS *IN VITRO* TERHADAP
FORMULASI BARU LIPOSOM TETRA
ETER LIPID (EPC-TEL 2,5) SEBAGAI
PEMBAWA OBAT DENGAN SONIKASI
DAN PENAMBAHAN NaCl pH 7
dan MgCl₂ pH 7 350 mOsmol**

**OLEH
RESKI LEPONG BULAN
0105007152**

Untuk Memenuhi Persyaratan Kelulusan sebagai Sarjana Kedokteran pada
Fakultas Kedokteran Indonesia

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA, APRIL, 2009**

LEMBAR PERSETUJUAN

**UJI STABILITAS *IN VITRO* TERHADAP
FORMULASI BARU LIPOSOM TETRA
ETER LIPID (EPC-TEL 2,5) SEBAGAI
PEMBAWA OBAT DENGAN SONIKASI
DAN PENAMBAHAN NaCl pH 7
dan MgCl₂ pH 7 350 mOsmol**

**RESKI LEONG BULAN
0105007152**

Mengetahui,
Pembimbing

Dra. Ida Z Hafiz Apt Msi

NIP 130 932 210

Ketua Modul Riset

DR.dr. Saptawati Bardosono, MSc.

NIP 140 102 741

KATA PENGANTAR

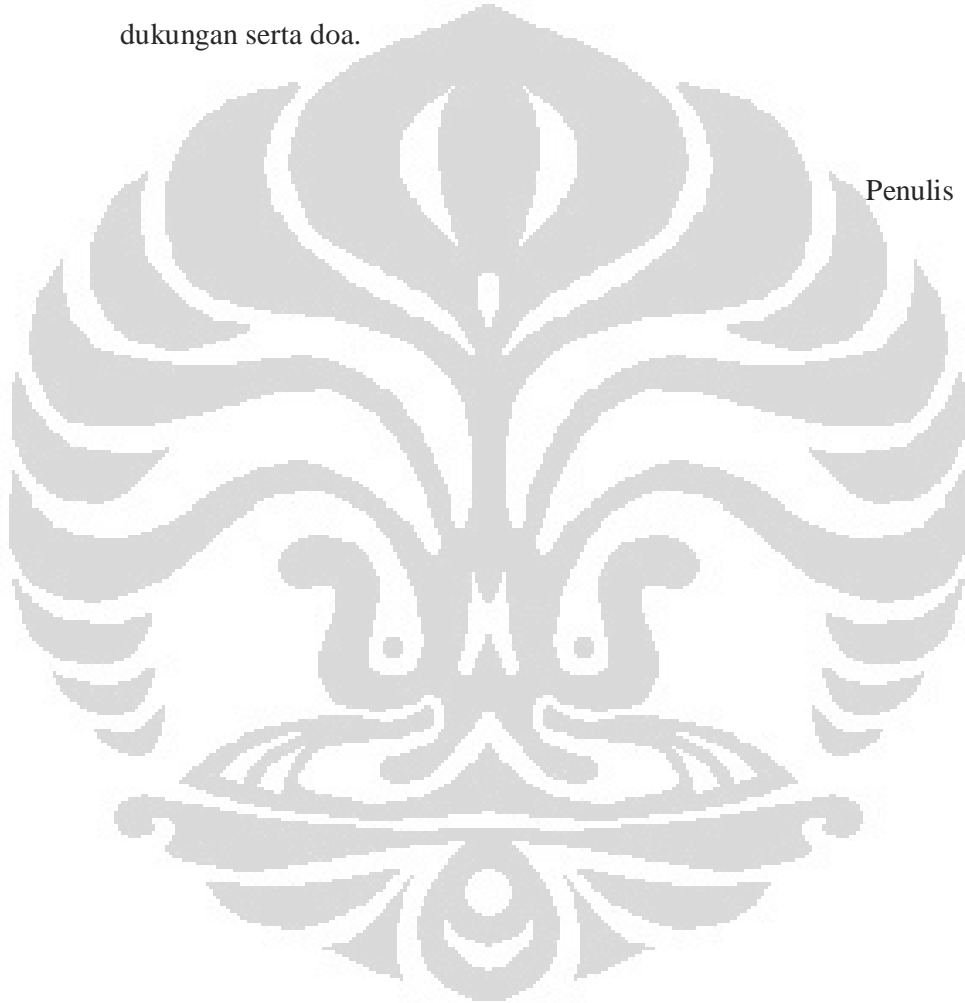
Puji dan syukur kepada Tuhan Allah karena berkat, tuntunan dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian ini dengan judul “ *Uji Stabilitas In Vitro Terhadap Formulasi Baru Liposom Tetra Eter Lipid (EPC-TEL 2,5) Sebagai Pembawa Obat Dengan Sonikasi dan Penambahan NaCl pH 7 dan MgCl₂ pH 7 350 mOsmol*”.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kelemahan yang terdapat pada laporan penelitian ini. Untuk itu penulis menerima kritik dan saran dari semua pihak yang nantinya akan membawa manfaat bagi kita semua. Penulis menyadari bahwa selama penulisan laporan penelitian ini, penulis banyak mendapat masukan, bantuan, dan dorongan dari pihak lain. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Tuhan-Allah atas kasih anugerah-Nya dan penyertaan-Nya selalu.
2. Orang tua serta keluarga yang tiada hentinya memberikan dukungan serta doa.
3. Dra. Ida Z. Hafiz, Apt Msi sebagai dosen pembimbing yang dengan kesabarannya bersedia untuk mengajari penulis selama penelitian sampai laporan selesai.
4. Dr.dr. Erni H. Purwaningsih MS yang telah menyediakan bahan penelitian.
5. Dr.dr. Saptawati Badorsono, Msc sebagai ketua modul riset.
6. Seluruh staf Departemen Ilmu Farmasi Kedokteran FKUI yang telah menyediakan fasilitas dan tempat untuk penelitian ini.
7. Seluruh staf Departemen Fisika FKUI yang telah menyediakan fasilitas untuk penelitian.
8. Seluruh staf Departemen farmakologi FKUI yang telah menyediakan fasilitas untuk penelitian.
9. Seluruh staf Departemen biokimia FKUI telah yang telah menyediakan fasilitas untuk penelitian.

10. Keluarga besar KTB-ku, POTI 05, POFKUI, dan departemen kaderisasi SMFKUI , yang selalu mendukung dan mendoakan untuk berjalannya penelitian.
11. Seluruh angkatan 2005, PRIMA!!!!.
12. Teman-teman yang terlibat dalam terlaksananya penelitian ini yang selalu semangat untuk bekerjasama dengan penuh cinta kasih, dan memberi dukungan serta doa.

Penulis



DAFTAR ISI

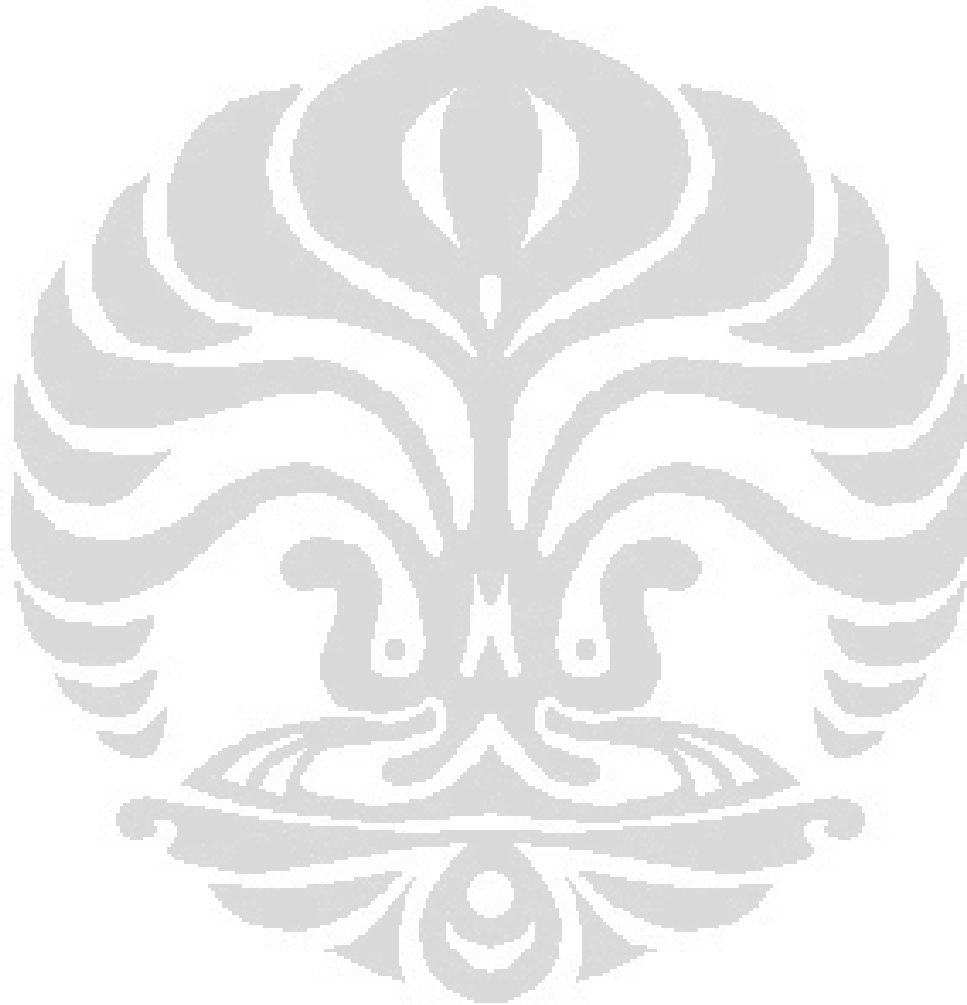
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Hipotesis	2
1.4 Tujuan Penelitian	2
1.4.1 Tujuan Umum	2
1.4.2 Tujuan Khusus	2
1.4.3 Manfaat Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Liposom	4
2.1.1 Struktur Liposom	4
2.1.2 Manfaat Liposom	5
2.2 Tetraeter Lipid, <i>Thermoplasma acidophilum</i> , larutan NaCl dan MgCl ₂	5
2.2.1 Tetraeter Lipid dan <i>Thermoplasma acidophilum</i>	5
2.2.2 Larutan NaCl	6
2.2.3 Magnesium Klorida (MgCl ₂)	7
2.3 Sonikasi	8
2.4 Kerangka Konsep	9
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	10
3.1 Desain Penelitian	10
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.3 Besar Sampel	10
3.4 Alat dan Bahan	10
3.5 Cara Kerja	11
3.5.1 Pembuatan Liposom Kontrol	11

3.5.2	<i>Cara Kerja Pembuatan Liposom Sonikasi dan Pewarnaannya.....</i>	12
3.6	Analisa Statistik	13
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	14
BAB 5	KESIMPULAN	17
5.1	Kesimpulan.....	17
5.2	Saran.....	17
DAFTAR PUSTAKA	18
LAMPIRAN	21
CURICULUM VITAE	30



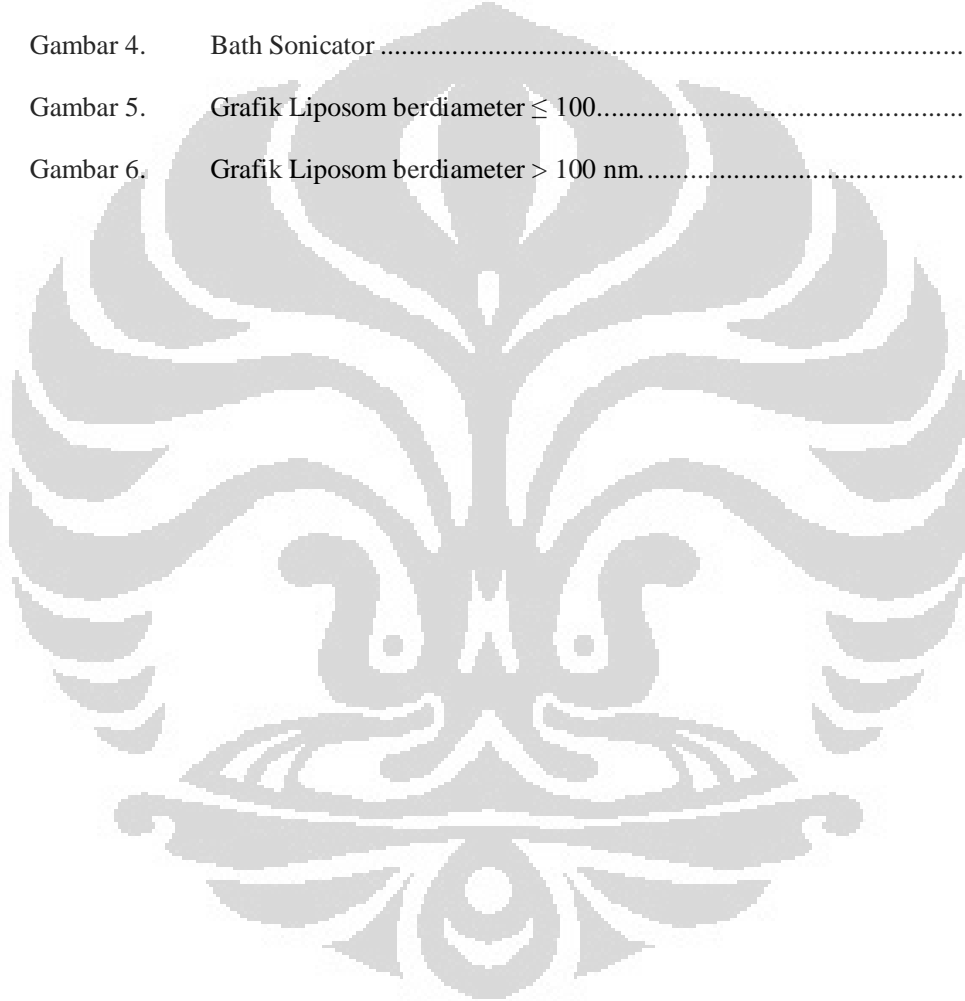
DAFTAR TABEL

Tabel 1. Liposom EPC TEL 2,5 % yang telah disonikasi dan diberikan larutan kimia dari hari 1 sampai bulan 3	14
---	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur Liposom	4
Gambar 2.	Struktur NaCl.....	6
Gambar 3.	Magnesium Klorida	7
Gambar 4.	Bath Sonicator	8
Gambar 5.	Grafik Liposom berdiameter ≤ 100	14
Gambar 6.	Grafik Liposom berdiameter > 100 nm.....	15



DAFTAR SINGKATAN

EPC : *Egg yolk Phosphatidyl Choline*

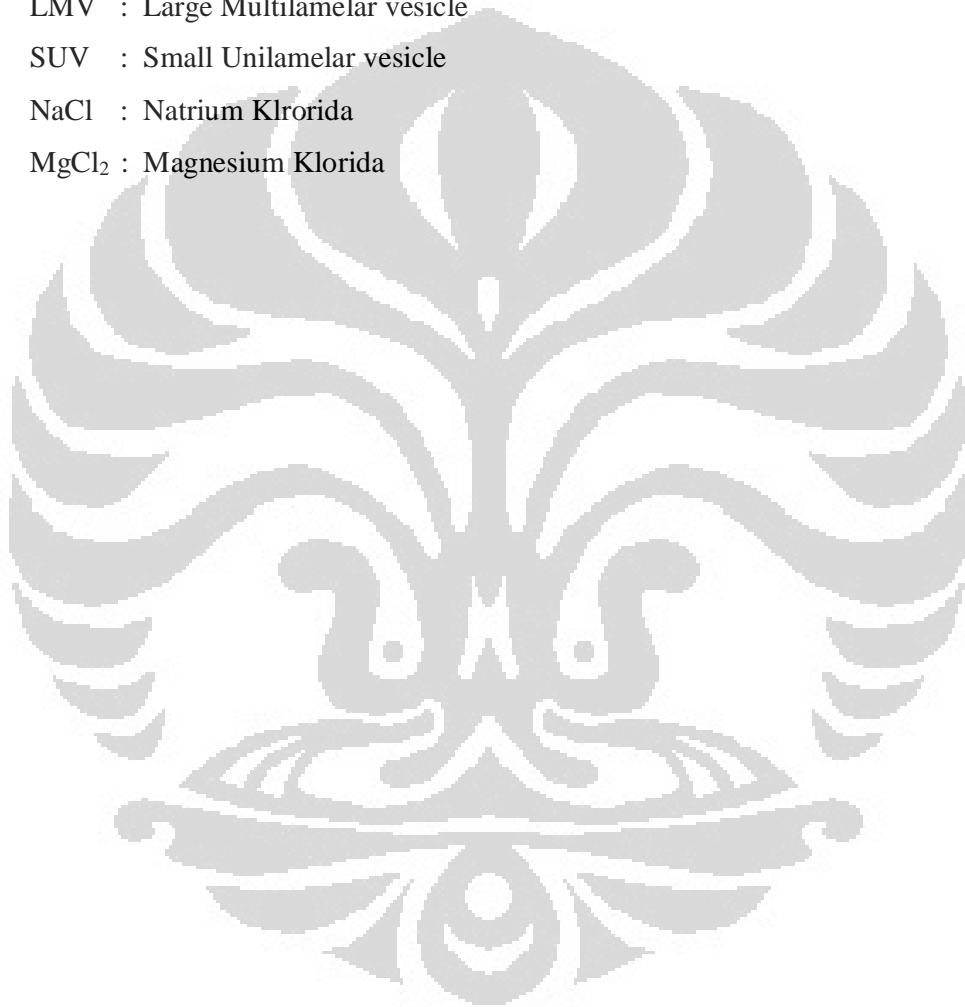
TEL : Tetra Eter Lipid

LMV : Large Multilamellar vesicle

SUV : Small Unilamellar vesicle

NaCl : Natrium Klorida

MgCl₂ : Magnesium Klorida



ABSTRAK

Liposom sebagai pembawa obat (*drug carrier*) merupakan salah satu produk teknologi nano yang sedang dikembangkan untuk meningkatkan efektivitas obat, menurunkan efek sampingnya serta meningkatkan keamanannya jika digunakan dalam jangka panjang. Liposom dapat dibuat dari berbagai komponen lipid, misalnya kombinasi lesitin dan tetraeter lipid (TEL). Kombinasi lesitin dan TEL merupakan komposisi yang belum pernah diuji tentang stabilitas secara kimia baik in vitro maupun in vivo. Liposom ini mengandung lesitin/ fosfatidilkolin kuning telur (*egg yolk phosphatidyl choline*) dan TEL (tetra eter lipid) 2,5 mol % dari *Thermoplasma acidophilum*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji stabilitas liposom EPC-TEL2,5 yang telah disonikasi dan diberikan larutan NaCl dan MgCl₂. Parameter yang dilihat adalah ukuran diameter liposom ≤ 100 nm dan >100 nm. Liposom dikatakan stabil bila ukuran diameter tidak berubah jumlahnya setelah pemaparan larutan NaCl dan MgCl₂ dari waktu ke waktu. Hasil dan Kesimpulan : tidak stabilnya liposom EPC TEL 2,5 % berdiameter ≤ 100 dan > 100 yang telah disonikasi dan diberikan larutan NaCl PH7 dan MgCl₂ PH7 dari waktu ke waktu.

Kata kunci : liposom, EPC-TEL2,5, disonikasi, NaCl, MgCl₂, stabilitas kimia

ABSTRACT

In Vitro stability test of tetra eter lipid liposome (EPC-TEL 2,5) as new formulation drug carrier with sonication method and addition of NaCl PH 7 and MgCl₂ PH 7 350 mOsmol. Liposome as a drug carrier is one of the nanotechnology products which is now being developed to increase drug effectivity, to decrease drug adverse effects, and to increase its safety in long term use. Liposome can be made from lipid components, such as combination between lecithin and tetraeter lipid (TEL) . The newest combination was made from egg yolk phosphatidylcholine and TEL 2,5 mol% from *Thermoplasma acidophilum* and named EPC-TEL 2,5. This combination has never been tested before, especially its chemical stability (in vitro and in vivo). This research main purpose is to test liposom EPC-TEL2,5 stability after it given sonication and exposed with Nacl and MgCl₂. The Object to analyze is only liposome with ≤ 100 nm dan >100 nm diameter. It will be clasified as stable if the diameter doesn't change or change with specific scale after exposed with NaCl and MgCl₂ from time to time. Conclusion: liposome that has > 100 nm and liposome that has ≤ 100 nm diameter after it given sonication and exposed with Nacl and MgCl₂ is not stable from time to time.

Keywords: liposome, EPC-TEL 2,5, Sonication, NaCl and MgCl₂ , chemical Stability

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini penelitian di bidang farmasi dalam upaya menurunkan tingkat toksisitas obat sampai tingkat yang paling rendah telah maju dengan pesat. Salah satunya adalah dengan menginkorporasikan obat ke dalam pembawa obat (*drug carrier*) sehingga obat dapat langsung mencapai organ sasaran.

Pembawa obat (*drug carrier*), adalah substansi yang digunakan untuk membawa obat ke sel sasaran. Persyaratan pembawa obat adalah tidak bersifat toksik, tidak mutagenik, tidak imunogenik dan dapat meningkatkan efektivitas obat yang dibawanya selain harus stabil secara kimia, biologi, dan fisika. Salah satu contoh pembawa obat adalah liposom. Liposom merupakan suatu vesikel membran yang dibentuk dengan cara mendispersikan suatu lipid, terutama fosfolipid, ke dalam media cair dan memiliki sifat-sifat sebagai pembawa obat. Saat ini liposom digunakan sebagai model sistem membran dan diperkenalkan sebagai pembawa obat yang berukuran seperti DNA.^{1,2} Struktur liposom pertama kali ditemukan oleh Alec Bamgham dari Cambridge pada awal tahun 1960, namun liposom sebagai pembawa obat telah dipatenkan pada tahun 1943 berupa campuran air antara lesitin dan kolesterol.¹

Purwaningsih, dkk mengembangkan komposisi baru liposom, yaitu liposom EPC-TEL2,5.³ Liposom ini mengandung lesitin/fosfatidilkolin kuning telur (*egg yolk phosphatidyl choline*) dan TEL (tetra eter lipid) 2,5 mol % dari *Thermoplasma acidophilum*. Liposom ini dapat mengikat obat metilprednisolon palmitat lebih baik dan terbukti menunjukkan efek terapi, efek imunologik, serta terdistribusi dengan baik dalam organ yang berbeda bermakna dibandingkan kontrol yaitu metilprednisolon tanpa liposom.³⁻⁶ Akan tetapi, keberhasilan tersebut belum didukung oleh data kestabilan liposom EPC-TEL2,5 secara kimia *in vitro*. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menguji stabilitas liposom EPC-TEL2,5 dengan cara mengukur ukuran partikel liposom pada kisaran osmolaritas

sebesar 350 mOsmol berlabel fluorescens (in vitro) setelah di sonikasi dan terpajan dengan larutan kimia yaitu NaCl dan MgCl₂.

Penelitian ini belum bisa di manfaatkan bagi industri farmasi. Tapi dapat digunakan sebagai awal penelitian dan masih harus melalui penelitian yang panjang dalam pengembangan bidang *nanotechnology* untuk terapi jangka panjang yang nantinya dapat dirasakan kegunaanya untuk masyarakat luas.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah liposom EPC-TEL 2,5 dari *Thermoplasma acidophilum* stabil secara kimia secara *in vitro*?

1.3 Hipotesis

Liposom EPC-TEL 2,5 dari *Thermoplasma acidophilum* stabil secara kimia secara *in vitro*.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

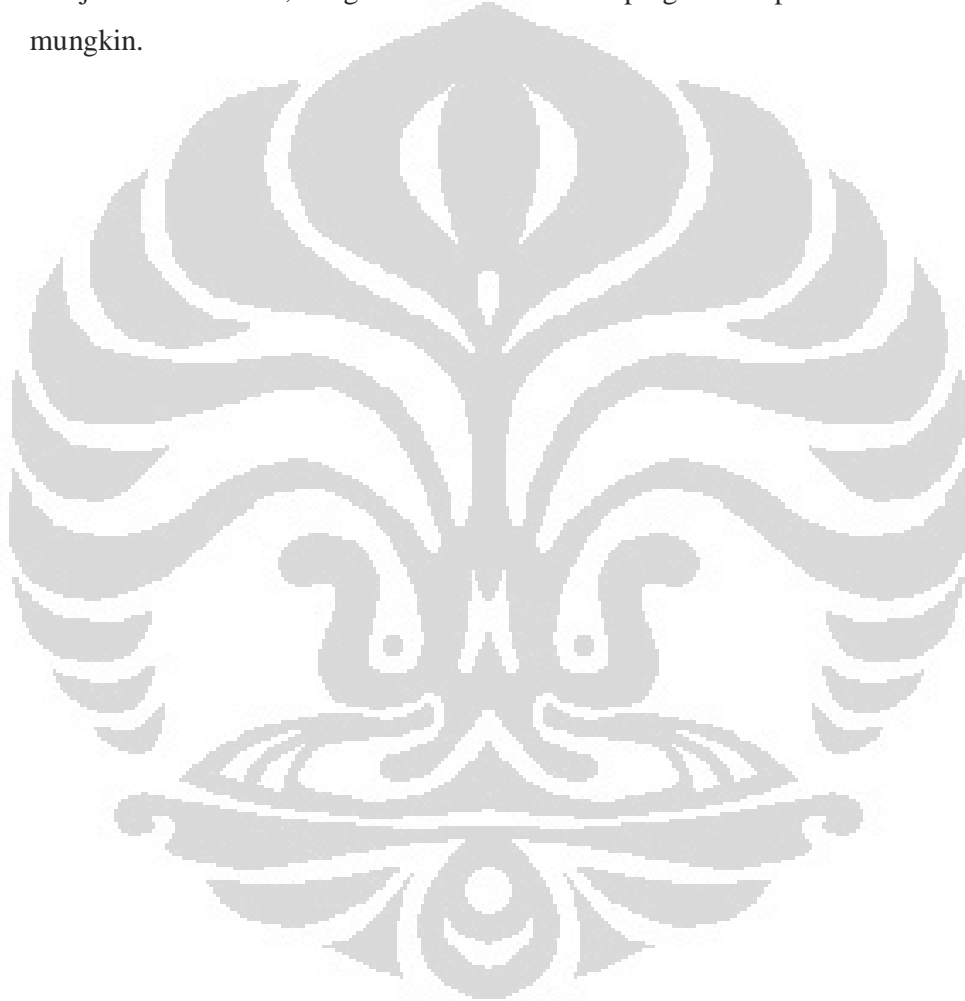
Menguji stabilitas liposom EPC-TEL2,5 secara kimiawi.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur diameter partikel liposom yang telah disonikasi dan terpajan larutan NaCl 350 mOsmol pada PH 7.
2. Mengukur diameter partikel liposom yang telah disonikasi dan terpajan larutan MgCl₂ 350 mOsmol pada PH 7.
3. Menjumlahkan liposom yang berdiameter ≤ 100 nm pada ad 1 dan ad 2 di atas.
4. Menjumlahkan liposom yang berdiameter > 100 nm pada ad 1 dan ad 2 di atas.
5. Menganalisis (dengan uji statistik) kestabilan liposom yang telah disonikasi dan terpajan larutan NaCl PH 7 350 mOsmol.
6. Menganalisis (dengan uji statistik) kestabilan liposom yang telah disonikasi dan terpajan larutan MgCl₂ pH 7 350mOsmol.

1.4.3 Manfaat Penelitian

Bila liposom EPC-TEL 2,5 terbukti stabil secara kimia, maka formulasi liposom ini dapat dimanfaatkan sebagai data awal stabilitas liposom EPC-TEL 2,5 untuk penelitian selanjutnya mengenai kemungkinan liposom sebagai pembawa obat yang efektif untuk terapi jangka panjang sehingga lebih efektif karena dosis obat menjadi lebih rendah, dengan demikian efek samping obat dapat ditekan serendah mungkin.



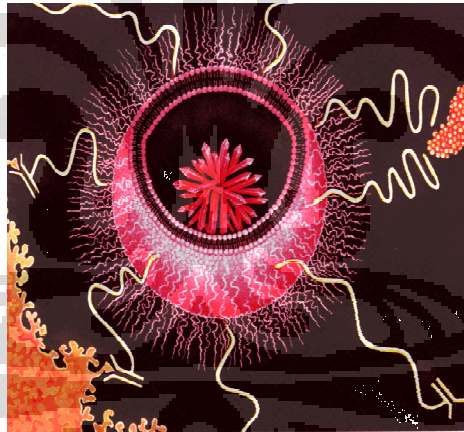
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Liposom

2.1.1 Struktur Liposom

Liposom sebagai pembawa obat telah dipatenkan pada tahun 1943 dalam bentuk campuran air antara lesitin dan kolesterol, walaupun struktur liposom pertama kali ditemukan oleh Alec Bamgham dari Cambridge pada awal tahun 1960.¹

Liposom merupakan suatu vesikel membran yang dibentuk dengan cara mendispersikan suatu lipid, terutama fosfolipid, ke dalam media cair. Liposom sebagai salah satu produk teknologi nano (*nanotechnology*) mempunyai ukuran antara 20 nm hingga 100 μm dengan ketebalan dwilapis lipid sebesar 4 nm.^{1,2}



Gambar 1. Struktur Liposom

Untuk aplikasi di bidang kedokteran, digunakan liposom berukuran 80-200 nm. Pembawa obat (*drug carrier*), adalah substansi yang digunakan untuk membawa obat ke sel sasaran dengan persyaratan tidak bersifat toksik, tidak mutagenik, tidak imunogenik dan dapat meningkatkan efektivitas obat yang di bawanya selain harus stabil secara kimia, biologi, dan fisika.⁷⁻⁹

Liposom yang berukuran 50-200 nm dapat dibuat dari berbagai komponen lipid misalnya lesitin dari kuning telur atau kedelai atau dari tetra eter lipid (TEL). TEL merupakan hasil destruksi membran Archaea, antara lain dari *Sulfolobus acidocaldarius* atau *Thermoplasma acidophilum*. Freisleben, dkk.¹⁻². membuktikan bahwa TEL dari *Thermoplasma acidophilum* terbukti tidak toksik, tidak mutagenik pada uji toksisitas akut.

Sebagai pembawa obat, liposom dapat membawa molekul obat dengan berbagai cara yaitu, terikat dengan membran liposom, terinterkalasi di antara dwilapis lipid, terlarut dalam dwilapis lipid atau terlarut di dalam vesikel.¹

2.1.2 Manfaat Liposom

Penggunaan liposom sebagai pembawa obat yang telah dipasarkan banyak dimanfaatkan sebagai produk parenteral atau topical. Berbagai sediaan liposom yang telah diuji efeknya pada manusia antara lain liposom yang mengandung antibiotika, fungisid, vaksin atau obat anti inflamasi. Liposom terbukti dapat memperpanjang waktu paruh obat serta dapat memperbesar distribusi obat ke organ sasaran secara selektif, sehingga dosis obat dapat diperkecil. Dengan demikian efek samping obat dapat ditekan serendah mungkin.¹⁰⁻¹²

2.2 Tetraeter Lipid, *Thermoplasma acidophilum*, larutan NaCl dan MgCl₂

2.2.1 Tetraeter Lipid dan *Thermoplasma acidophilum*

Tetra Eter Lipid (TEL) adalah salah satu produk hasil ekstraksi bakteri Archaea.^{13,14} Hasil penelitian Patel, dkk pada liposom yang terbuat dari membran archaea yaitu *Methanosarcina mazei*, *Methanobacterium espanole* dan *Thermoplasma acidophilum* menunjukkan bahwa vesikel multilamelar dari *Th. acidophilum*, *in vitro* paling stabil di antara ketiga jenis archaea tersebut.

Membran *Th.acidophilum* terutama terdiri atas cincin dasar tetraeter yang terdiri dari 3 fraksi utama yaitu lipid apolar, glikolipid dan glikophospholipid. Struktur dasar lipid membran adalah sebuah *diphytanylglyceroltetraether* berasal dari dua cincin C₄₀ isoprenoid. Membran lipid bipolar ini membentuk liposom

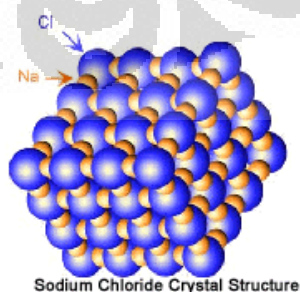
yang stabil hingga diameter minimum (150 nm). Membran ini membentuk satu lapisan lipid (lipid monolayer) berbeda dengan fosfolipid lain yang membentuk dwilapis lipid (lipid bilayer).

Struktur membran tanpa ikatan rangkap ini mempunyai gugus metil samping yang sebagian membentuk pentasiklik, tanpa atau dengan residu fosfat yang terikat melalui ikatan ester. Ikatan eter-gliserol sangat resisten terhadap hidrolisis pada pH rendah sehingga memberi keuntungan lain dibandingkan dengan ikatan ester. Ketiadaan ikatan rangkap dalam struktur TEL akan meningkatkan resistensi terhadap oksidasi, sedangkan adanya gugus metil samping akan menambah efek fluiditas. Karena itu, liposom satu lapisan lipid (monolayer) yang dibentuk dari tetraeter lipid (TEL) dari Archaea tersebut, bersifat stabil dengan ikatan yang cukup erat. Pada suhu tinggi, 59°C, akan terbentuk pentasiklik secara simetris di antara rantai hidrokarbon yang lebih stabil dan menurunkan derajat rotasi bebas membran karena membran menjadi tebal.^{13,15,16-18}

Pada penelitian yang dilakukan oleh Freisleben, dkk pada sel hidup membuktikan bahwa TEL dari *Th.acidophilum* tidak bersifat toksik dan antimutagenik.¹⁹

2.2.2 Larutan NaCl

Natrium Klorida merupakan senyawa ionik sederhana yang terdiri dari ion natrium dan ion Klorida. Gambar di bawah menunjukkan struktur Kristal natrium Klorida yang terbentuk dari logam Natrium (Na) dan atom klor (Cl_2) membentuk senyawa NaCl.²⁰



Gambar 2. Struktur NaCl

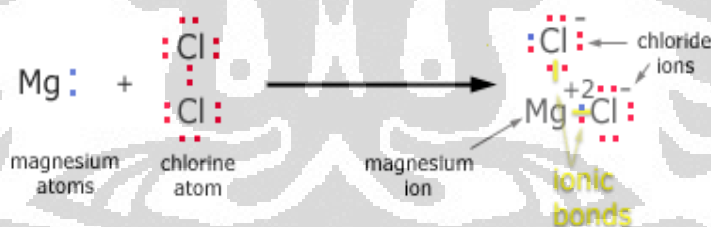
Daya tarik yang kuat antara ion positif dan negatif memerlukan banyak energi panas untuk memecahnya, sehingga natrium klorida memiliki titik leleh dan titik didih yang tinggi.

Natrium sangat penting bagi tubuh manusia karena merupakan kation utama pada cairan ekstraselular dan berperan dalam osmolaritas cairan.²¹

2.2.3 Magnesium Klorida (MgCl₂)

Magnesium Klorida juga merupakan senyawa ionik, tetapi dengan pengaturan ion-ion yang lebih rumit karena jumlah ion kloridanya dua kali lebih banyak dari ion magnesium. Sama dengan natrium klorida, panas yang dibutuhkan untuk mengatasi daya tarik diantara ion-ion juga besar, sehingga titik leleh dan titik didihnya juga tinggi.

Jika ion magnesium dipecah dari kisi padatnya dan berubah menjadi larutan, ada daya tarik yang cukup antara ion-ion 2+ dan molekul air untuk membentuk ikatan koordinasi (kovalen) antara ion magnesium dan pasangan elektron bebas di sekitar molekul air. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar berikut.²²



Gambar 3. Magnesium Klorida

Magnesium sangat esensial untuk berbagai reaksi enzimatik, khususnya dalam hal produksi energi selular, system saraf, gigi dan tulang.²³

2.3 Sonikasi

Sonikasi merupakan energi suara yang di gunakan untuk menghancurkan suspensi vesikel multilamellar yang besar (LMV). Penghancuran ini biasanya menghasilkan vesikel unilamellar yang kecil (SUV) dengan diameter berkisar antara 15-50 nm. Terdapat dua jenis sonikator yaitu *Probe tip sonicators* dan

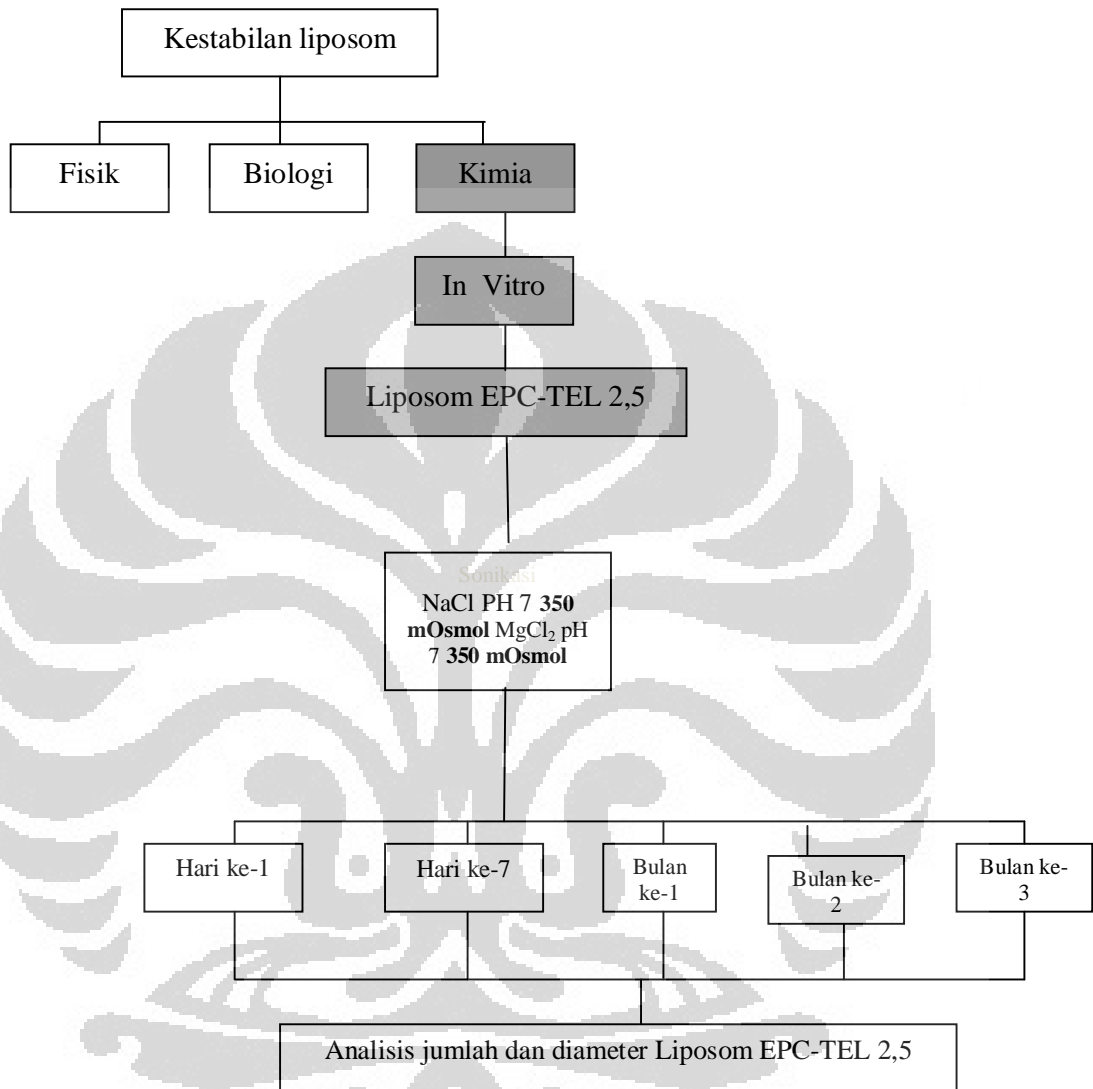
bath sonicators. *Probe tip sonicators* menghantarkan input energi yang tinggi kepada suspensi lemak tetapi panas yang berlebihan membuat suspensi mengalami degradasi. *Sonication tips* juga cenderung melepaskan partikel-partikel titanium ke dalam suspensi lipid yang harus disingkirkan dengan menggunakan sentrifugasi. Dengan alasan-alasan ini, *bath sonicators* (gambar 3) merupakan peralatan yang paling sering digunakan dalam preparasi SUV.



Gambar 4. Bath Sonicator

Sonikasi dengan bath sonicator dilakukan dengan menempatkan tabung sampel yang mengandung partikel suspensi ke dalam *bath sonicators* dan disonikasi selama 5-10 menit di atas temperatur transisi dari gel ke cairan. Suspensi lipid harus segera diklarifikasi untuk menghasilkan larutan yang sedikit berkabut. Kabut ini diakibatkan karena penyebaran cahaya yang diinduksi oleh partikel-partikel residu yang besar dalam larutan suspensi. Partikel-partikel ini dapat disingkirkan dengan sentrifugasi untuk menghasilkan suspensi SUV yang jernih. Ukuran rata-rata dan distribusi dipengaruhi oleh komposisi, konsentrasi, suhu, waktu, dan kekuatan sonikasi, dan volume.²⁴

2.4 Kerangka Konsep



BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan studi eksperimental untuk mengetahui kestabilan kimia liposom EPC-TEL 2,5 secara *in vitro*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Departemen Farmasi Kedokteran dan Laboratorium Fisika Departemen Fisika Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan Februari 2007 sampai Juli 2007.

3.3 Besar Sampel

Besar sampel penelitian ini dihitung dengan rumus Federer:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

t = 10 (jumlah kelompok perlakuan)

Kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah NaCl PH 7 hari 1, NaCl PH 7 hari 8, NaCl PH 7 bulan 1, NaCl PH 7 bulan 2, NaCl PH 7 bulan 3, MgCl₂ PH 7 hari 1, MgCl₂ PH 7 hari 8, MgCl₂ PH 7 bulan 1, MgCl₂ PH 7 bulan 2, MgCl₂ PH 7 bulan 3.

Dari hasil perhitungan di dapatkan n= 3. Hal ini Berarti, besar sampel tiap kelompok yang dibutuhkan untuk tiap peneliti adalah 3.

3.4 Alat dan Bahan

1. Botol kecil 31 buah
2. *Round bottom glass* 1 liter yang berisi 30 beads

3. Micropipete
4. Lemari pendingin bersuhu 4⁰C
5. Kertas Parafilm
6. Aluminium foil
7. *Rotavapor-Vacuum pump-Waterbath büchi*
8. Bath sonicator/ titanium probe sonicator Branson 1510
9. Es batu
10. Filter PC 200 nm
11. Kamera Panasonic WV-CP240
12. Mikroskop
13. Software USB TV
14. Gelas objek
15. Penutup gelas objek
16. Etanol 70%
17. Etanol 98% sebanyak 20 ml
18. Aquabidest
19. Aquadest
20. Liposom EPC sebanyak 78 mg
21. TEL 2,5% sebanyak 124 µl
22. Larutan quinacrine 5% sebanyak 50cc
23. Kloroform 98% sebanyak 20 ml

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Pembuatan Liposom Kontrol

1. Semua alat dicuci dengan etanol 70%, kemudian dengan Aquadest kemudian dicuci lagi dengan etanol 98%. Setelah itu dikeringkan.
2. *Rotavapor-Vacuum pump-Waterbath büchi* dipanaskan.
3. Air dimasukkan ke dalam *Waterbath büchi* sampai seperempat bagian dari *round bottom glass* terendam
4. Air dipanaskan sampai suhu 40⁰C.
5. Liposom EPC dan TEL ditimbang lalu dicampur.

6. 20 ml etanol 98% dan 20 ml kloroform dicampur. 1 ml campuran tersebut dimasukkan ke dalam campuran EPC dan TEL dan dituang ke dalam *round bottom glass*.
7. Penuangan dilakukan berulang kali sampai semua EPC dan TEL larut.
8. Sisa campuran kloroform dan etanol dituang ke dalam *round bottom glass*.
9. Pasang *round bottom glass* ke *Rotavapor-Vacuum pump-Waterbath büchi*
10. Tombol pemutar dinyalakan
11. Mesin vakum dinyalakan dan diatur perlahan hingga tekanan mencapai 200 milibar
12. Mesin pendingin dinyalakan.
13. Larutan di dalam *round bottom glass* ditunggu sampai terevaporasi dan timbul lapisan tipis
14. Tekanan diturunkan secara perlahan sampai kurang dari 50 milibar
15. Proses pembuatan dihentikan bila sudah tidak tercium lagi aroma campuran kloroform dan etanol dalam *round bottom glass*
16. Lapisan tipis diencerkan (lihat nomor 12) dengan Aquabidest 50 ml dan kocok selama 15 menit dan didapatkan hasil berupa liposom yang telah mengandung TEL
17. Liposom dibagi rata ke dalam 31 botol kecil.

3.5.2 Cara Kerja Pembuatan Liposom Sonikasi dan Pewarnaannya

1. Ambil 2 botol berisi liposom sebanyak yang diperlukan untuk membuat perlakuan sesuai dengan tujuan penelitian
2. Botol 1 disonikasi selama 60 menit dengan menggunakan Bath sonicator/ titanium probe sonicator Branson 1510 kemudian ditambahkan larutan NaCl pH7 sebanyak 12,5 ml
3. Botol 2 disonikasi selama 60 menit dengan menggunakan Bath sonicator/ titanium probe sonicator Branson 1510 kemudian ditambahkan larutan MgCl₂ pH7 sebanyak 12,5 ml
4. 10 µl larutan quinakrin disuntikkan ke dalam masing-masing larutan liposom
5. 20 µl campuran quinakrin dan liposom dituang ke atas gelas objek
6. Periksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 × 10

7. Jumlah dan ukuran liposom dihitung per 10 lapang pandang direkam, difoto, dan dicatat hasilnya.
8. Lakukan langkah ke 7 pada hari ke-0 (hari pembuatan liposom), hari ke-7, bulan ke-1, bulan ke-2, dan bulan ke-3.

3.6 Analisa Statistik

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji kruskal wallis. Batas kemaknaan adalah $p < 0,05$.

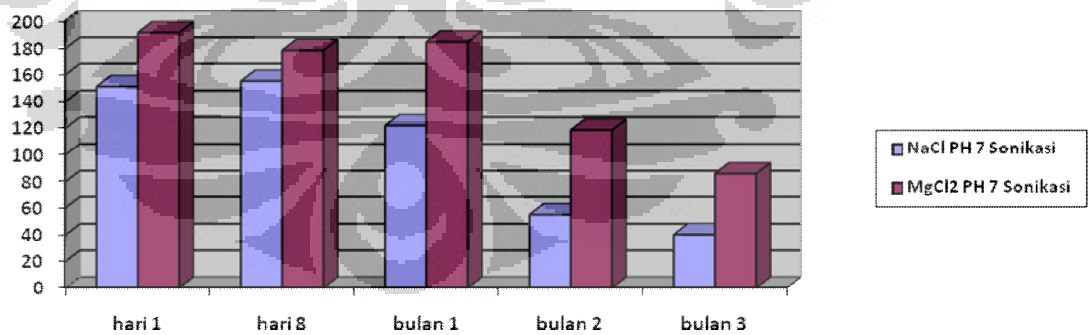


BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

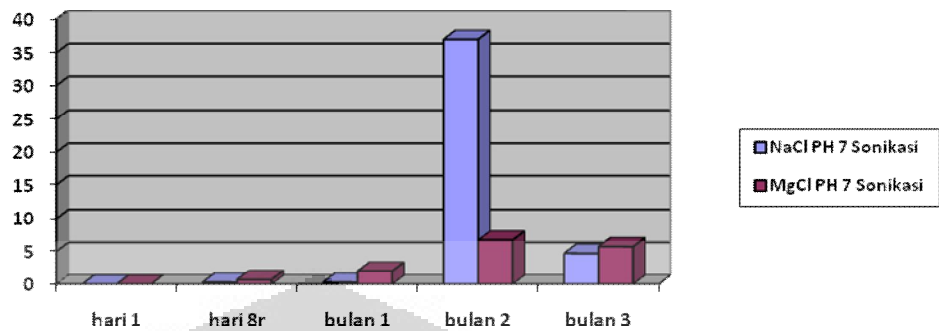
Hasil uji stabilitas liposom EPC TEL 2,5 % setelah disonikasi dan terpajan larutan kimia dengan diameter ≤ 100 dan >100 nm dari hari 1 sampai bulan 3 dapat dilihat melalui tabel, gambar grafik dan data statistik. Semua liposom ini telah disonikasi dan diberikan larutan ber PH 7, oleh karena itu selanjutnya akan disebut kelompok NaCl dan Kelompok MgCl₂.

Tabel 1. Liposom EPC TEL 2,5 % yang telah disonikasi dan diberikan larutan kimia dari hari 1 sampai bulan 3.

Diameter	Sonikasi									
	NaCl PH 7					MgCl ₂ PH 7				
	Hari 1	Hari 8	Bulan 1	Bulan 2	Bulan 3	Hari 1	Hari 8	Bulan 1	Bulan 2	Bulan 3
≤ 100	70	148	147	57	16	138	83	222	102	66
	200	180	141	41	43	252	206	150	74	84
	183	137	77	66	60	184	246	182	179	107
> 100	0	0	0	41	4	0	2	5	10	5
	0	1	0	66	6	0	0	0	8	9
	0	0	1	4	4	0	0	1	2	3



Gambar 5. Grafik Liposom berdiameter ≤ 100



Gambar 6. Grafik Liposom berdiameter > 100 nm.

Melalui grafik liposom berdiameter < 100nm , kita dapat melihat perbandingan jumlah liposom NaCl dan MgCl dari hari 1 sampai bulan 3. Pada liposom NaCl terdapat perbedaan jumlah dari hari 1 sampai dengan bulan ke tiga. Pada hari ke 8 jumlah liposom sempat meningkat, tetapi pada bulan 1 sampai dengan bulan 3 jumlah liposom menurun . Hal ini menunjukkan ketidakstabilan liposom NaCl PH7 dari hari 1 dan bulan 3.

Pada liposom MgCl terdapat perbedaan jumlah dari hari 1 sampai dengan bulan ke tiga. Pada hari ke 8 jumlah liposom sempat menurun. Tetapi meningkat lagi pada bulan 1, tetapi peningkatannya tidak melebihi hari 1. Kemudian jumlah liposom pada bulan 2 menurun sampai dengan bulan 3. Hal ini menunjukkan ketidakstabilan liposom MgCl dari hari 1 sampai dengan bulan 3.

Pada liposom yang berdiameter > 100 nm, NaCl hari 1 sampai dengan bulan 1 tidak menunjukkan perubahan jumlah yang signifikan (jumlah liposom tidak ada= 0)sehingga tidak dapat digunakan untuk menunjukkan stabil atau tidaknya liposom. Tetapi pada bulan 2 terjadi jumlah liposom meningkat. Pada bulan ke 3 jumlah liposom menurun. Sehingga hal ini menunjukkan ketidakstabilan liposom > 100 nm dari bulan 2 sampai dengan bulan 3.

Pada liposom MgCl₂ hari 1 sampai dengan bulan 1 tidak menunjukkan perubahan jumlah yang signifikan (jumlah liposom tidak ada= 0)sehingga tidak dapat digunakan untuk menunjukkan stabil atau tidaknya liposom dan tidak dapat digunakan dalam data statistik. Tetapi pada bulan 2 terjadi jumlah liposom

meningkat. Pada bulan ke 3 jumlah liposom menurun. Sehingga hal ini menunjukkan ketidakstabilan liposom > 100 nm dari bulan 2 sampai dengan bulan 3

Berdasarkan analisa statistik dengan metode kruskal wallis didapatkan perubahan berbeda bermakna pada liposom yang berdiameter ≤ 100 $P = 0,019$ yang berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima $P < 0,05$. Untuk melihat perbedaan kemaknaan tersebut dilakukan uji post Hoc T Multiple Comparison. Hal ini menunjukkan bahwa adanya ketidak stabilan pada kelompok tersebut.

Sedangkan perubahan jumlah liposom yang berdiameter >100 juga menunjukkan hasil berbeda bermakna $P= 0,007$ yang berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima $P < 0,05$. Hal ini menunjukkan tidak stabilnya liposom yang berdiameter >100 nm. Tetapi hasil ini tidak dapat dipakai karena pada data diameter > 100 nm, hari 1 sampai dengan bulan 1 tidak menunjukkan perubahan jumlah yang signifikan (jumlah liposom tidak ada= 0) sehingga tidak dapat digunakan untuk menunjukkan stabil atau tidaknya liposom

Ketidakstabilan pada liposom berdiameter ≤ 100 dan > 100 nm dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor, yaitu penghitungan dan pengukuran diameter secara kasar yang dilakukan oleh peneliti, penggumpalan liposom yang membuat pengurangan jumlah, pemecahan liposom yang membuat penambahan jumlah, PH larutan yang tidak sesuai. Uji kestabilan liposom EPC TEL 2,5 % harus diperkuat dengan menggunakan uji stabilitas dengan larutan kimia yang lain serta dengan uji fisika dan biologi. Diperlukan juga inovasi peralatan pengukuran diameter dan perhitungan jumlah liposom yang lebih akurat.

Percobaan yang dilakukan Purwaningsih, dkk membuktikan bahwa komposisi liposom EPC-TEL2,5% dapat mengikat obat metilprednisolon palmitat lebih baik dan terbukti menunjukkan efek terapi, efek imunologik, serta terdistribusi dengan baik dalam organ dibandingkan kontrol yaitu metilprednisolon tanpa liposom.³⁻⁶

Dari hasil penelitian ini ternyata liposom EPC TEL 2,5 % berdiameter ≤ 100 nm dan > 100 nm yang telah disonikasi dan diberikan larutan NaCl PH 7 dan $MgCl_2$ PH 7 tidak stabil.

BAB 5 KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pengamatan tabel, grafik dan analisis statistik menunjukkan tidak stabilnya liposom EPC TEL 2,5 % berdiameter ≤ 100 dan > 100 yang telah disonikasi dan diberikan lautan NaCl PH7 dan MgCl₂ PH7 dari waktu ke waktu.

5.2 Saran

1. Diperlukan inovasi peralatan pengukuran diameter dan perhitungan jumlah liposom yang lebih akurat
2. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini harus diperkuat dengan uji kestabilan menggunakan larutan kimia yang lain serta dengan uji stabilitas fisika dan biologi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Freisleben HJ, Neisser C, Hartmann M, Rudolph P, Geck P, Ring K, Muller WEG. Influence of the main phospholipids (MPL) from *Thermoplasma acidophilum* and of liposomes from MPL on living cells: cytotoxicity and mutagenicity. *J Liposome Research* 1993;3(3):817-33.
2. Freisleben HJ, Bormann J, Litzinger DC, Lehr F, Rudolph P, Schatton W, Huang L. Toxicity and biodistribution of liposomes of the main phospholipids from the Archaeobacterium *Thermoplasma acidophilum* in mice. *J Liposome Research* 1995;5(1):215-23.
3. Ernie HP, Freisleben HJ, Sadikin M. Peningkatan Inkorporasi metilprednisolon palmitat pada liposome yang mengandung tetraeter lipid dari membran *Sulfolobus acidocaldarius* membentuk sediaan baru liposomal metilprednisolon palmitat. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2002; 1(1): 24-30.
4. Effendi AR. Efek Liposom metilprednisolon palmitat terhadap kadar TNF α dan distribusinya di hepar dan limpa mencit. Tesis Program Studi Ilmu Biomedik FKUI, Program pascasarjana UI, November 2002.
5. Wawaimuli Arozal, FD Suyatna. Ernie H Purwaningsih, Hedi R Dewoto. Peningkatan Efek Antiinflamasi Sediaan Metilprednisolon dalam bentuk Liposom. *MKI* 2005; 56(1): 17-22.
6. Nina Marlina Efek Liposom Metilprednisolon Palmitat terhadap Proliferasi Limfosit CD4⁺ dan CD8⁺ yang distimulasi oleh Concanavalin A secara in vitro. Tesis Program Studi Ilmu Biomedik FKUI, Program Pascasarjana UI, januari 2004.
7. Lasic DD. Liposomes .*Science and Medicine* 1996 (may-June): 34-43
8. New RRC (ed). Introduction. In *Liposomes. A practical Approach*. IRL Press 1990 :1-31.
9. New RRC. Characterization of liposomes. In : New RRC (ed). *Liposomes. A. Practical approach*. IRL Press 1991 : 105-61.
10. Gregoriadis G. engineering liposomes for drug delivery : progress and problems. *TIBTECH* 1995;13:527-37.

11. Lasic DD(ed). Liposomes in the treatment of infectious diseases. In liposomes from Physics to Application. Elsevier Science Publisher BV 1993:323-48.
12. Bakker-Woudenberg IAJM. Liposomes in the treatment of parasitic, viral, fungal, and bacterial infections. J Liposomes Research 1995;5(1):169-91.
13. Lasic DD. Liposomes as immuno-adjuvants. In: Liposomes from physics to Application. Elsevier Science Publisher BV 1993 : 347-64.
14. Stern J, Freisleben HJ, Janku S, Ring K. Black lipid membrane of tetraether lipids from *Thermoplasma acidophilum*. Biochim Biophys Acta 1992;1128:227-36.
15. Freisleben HJ, Henkel L, Gutermann R, Rudolph P, John G, Sternberg B, Winter S, Ring K. Fermentor cultivation of *Thermoplasma acidophilum* for the production of cell mass and the main of phospholipids fraction. Appl Microbiol Biotech 1994;40:745-52.
16. Lasic DD (ed). Liposomes as drug delivery system Liposomes from Physics to Application. Elsevier Science publisher BV.1993.p.265-324.
17. Lasic DD(ed) . chemistry of Lipids and Liposomes. In : Liposomes from Physics to Application. Elsevier Science Publisher BV 1993: 1-42.
18. Sugai A, Sakuma R, Fukuda I, Kurosawa N, Itoh YH, Kon K, Ando S, Itoh T. The structure of the core polyol of the ether lipids from *Sulfolobus acidocaldarius*. Lipids 1995;30(4):339-44.
19. Freisleben HJ, Neisser C, Hartmann M, Rudolph P, Geck P, Ring K, Muller WEG. Influence of the main phospholipids (MPL) from *Thermoplasma acidophilum* and of liposomes from MPL on living cells: cytotoxicity and mutagenicity. J Liposome Research 1993;3(3):817-33.
20. American Council Chemistry,inc. Sodium Chloride: NaCl Salt of Earth. October 2003. Diunduh dari.
<http://www.americanchemistry.com>
21. Mansjoer A, Simadibrata M. Dukungan Nutrisi Pada Penyakit Kritis. Dalam : Sudoyo Aru W, dkk. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid II. Ed 4. Jakarta : Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. 2006.hal 148.
22. Sifat-sifat Klorida Unsur Periode 3. 19 April 2008. di unduh dari.

<http://www.chemistry.org>

23. Walter Last. Magnesium Chloride For Health and Rejuvenation. April 2008.

diunduh dari :

<http://www.mrbean.net.au/~Wlast/magnesiumchloride.html>

24. Avanti Polar Lipids, Inc. Preparation Of Liposomes. [serial online] Oktober 1997 [Cited 2008 January 17]. Diunduh dari.

<http://www.avantilipids.com/PreparationOfLiposomes.html>



LAMPIRAN

LAMPIRAN A. PREPARASI PEMBUATAN LIPOSOM

1. 1 EPC

Diketahui : Mr Liposom EPC = 780 gram

1 ml air = 10 mMolar liposom EPC

1 orang membutuhkan 10 ml larutan liposom

Dicari : Massa liposom

$$M = \frac{n}{V} = \frac{\text{massa} / Mr}{V} \rightarrow \text{massa} = \frac{MV}{Mr}$$

$$\text{massa} = 10 \cdot 10^{-3} \cdot 780 \cdot 10 \cdot 10^{-3} = 78 \cdot 10^{-3} \text{ gr} = 78 \text{ mg / orang}$$

$$\text{Untuk 5 orang} = 78 \text{ mg} \times 5 = 390 \text{ mg}$$

1. 2 TEL

Diketahui : TEL \rightarrow 2,5 % dari mol EPC

Mr TEL = 1488,4

Dicari : massa TEL

$$\text{Mol TEL dalam 10 ml air} = \frac{2,5}{100} \times 100 \text{mMolar} = 2,5 \text{ mmol}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa TEL} &= Mr \times \text{mol} \\ &= 1488,4 \times 2,5 = 3,721 / \text{org} \\ &= 18,625 \text{ mg} / 5 \text{ org} \end{aligned}$$

EPC + TEL dilarutkan menjadi 50 ml liposom.

TEL yang tersedia = 150 mg/ml.

$$\text{Volume TEL yang dibutuhkan} : \frac{18,6}{150} \times 1 \text{ ml} = 0,124 \text{ ml}$$

Dengan Spuit :

1 ml = 80 IU

$$0,124 \text{ ml TEL} = 9,92 \text{ IU} \approx 10 \text{ IU}$$

1. 3 Quinacrine

2. Quinacrine

Diketahui : $\frac{2,5 \text{ mg Quinacrine}}{50 \text{ g lipid}} = 0,005\%$

Berarti $\frac{0,005 \text{ gr}}{100 \text{ cc larutan}} = 0,005\% \text{ Quinacrine dalam}$

Dicari : massa Quinacrine
Lipid = EPC + TEL
 $= 390 + 18,625 = 408,625 \text{ mg lipid dalam } 50 \text{ ml liposom}$

$$\text{Massa Quinacrine} = \frac{0,005}{100} \times 408,625 \text{ mg} = 0,020 \text{ mg} \\ = 2 \times 10^{-5} \text{ gram}$$

Quinacrine yang dilarutkan dalam buffer 5 cc
 $0,005\% \rightarrow \text{kalo } 10 \text{ cc} \rightarrow 0,0005 \text{ gram} = 0,5 \text{ mg}$

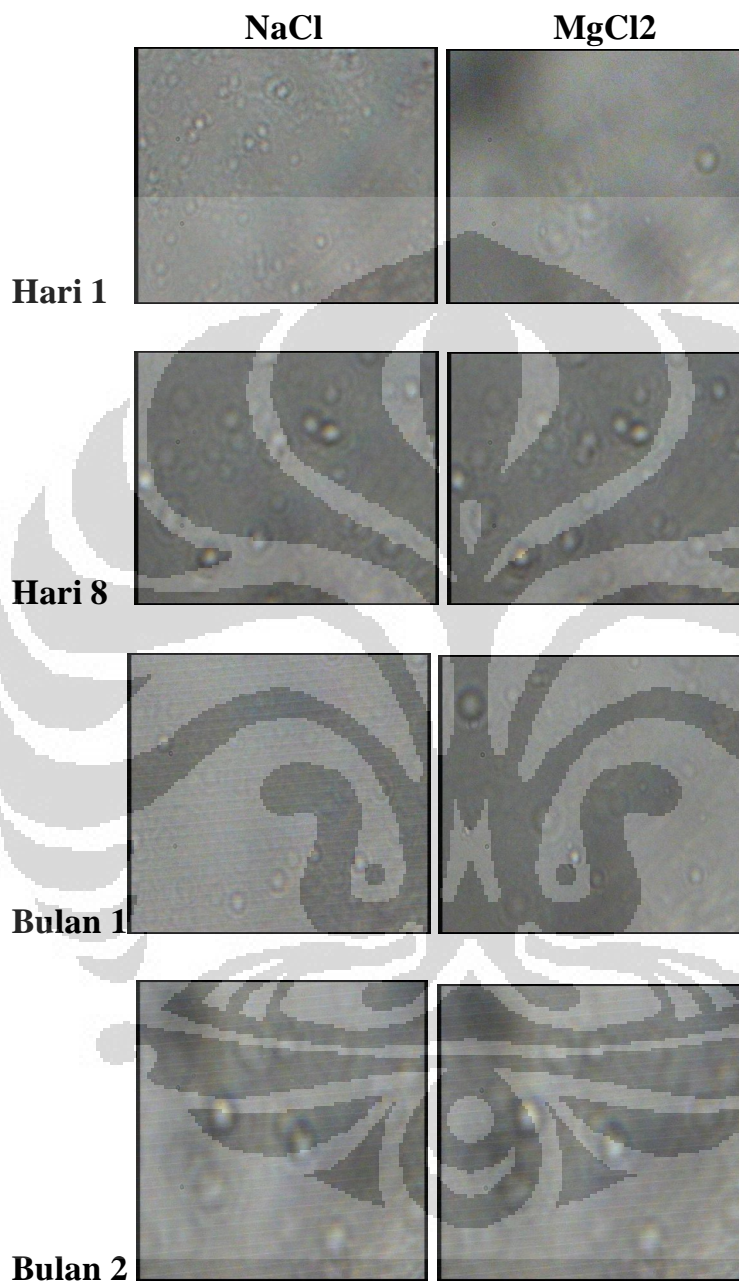
Hasil pengenceran 5 x \rightarrow dalam 50 cc dibutuhkan 0,5 mg
Dalam 5 cc buffer $\rightarrow 0,5 \times \frac{5}{50} = 0,05 \text{ mg}$

Volume Quinacrine :
 $\frac{0,020 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{L} = 0,4 \mu\text{L}$ larutan Quinacrine untuk 50 ml sediaan liposom

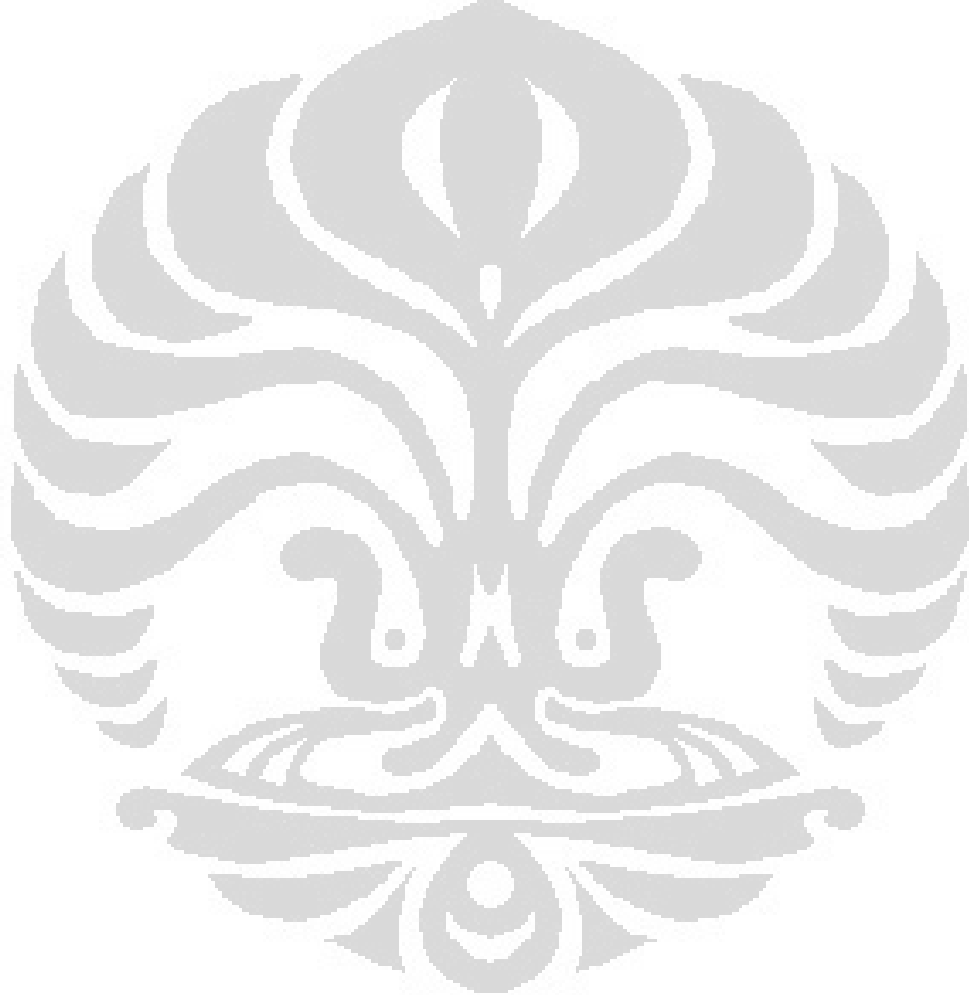
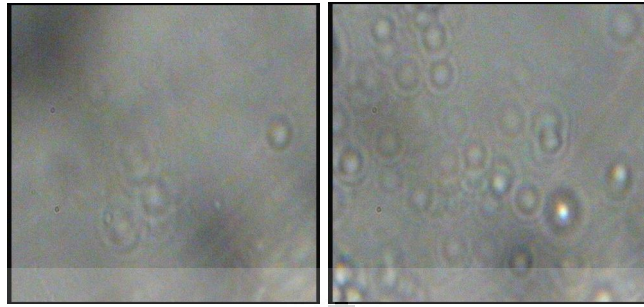
Untuk 40 preparat : $\frac{0,4}{40} = 0,01 \mu\text{L}$

Diencerkan 10 x = 0,1 μL

LAMPIRAN B. Gambar Liposom Hari 1 Sampai dengan Bulan 3



Bulan 3



**LAMPIRAN C. HASIL UJI STATISTIK
Kruskal-Wallis Test**

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	
Jumlah liposom yang berdiameter kurang dari sama dengan 100	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	3	19.33	
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	3	18.67	
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	3	15.00	
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	3	4.17	
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	3	3.00	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	3	23.67	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	3	22.33	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	3	23.67	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	3	14.33	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	3	10.83	
	Total	30		
	Jumlah liposom yang berdiameter lebih dari 100	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	3	7.00
		Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	3	9.67
Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1		3	9.67	
LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2		3	26.67	
Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3		3	22.33	
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0		3	7.00	
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7		3	10.50	
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1		3	15.17	
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2		3	23.83	
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3		3	23.17	
Total		30		

Kruskal-Wallis Test

Test Statistics(a,b)

	Jumlah liposom yang berdiameter kurang dari sama dengan 100	Jumlah liposom yang berdiameter lebih dari 100
Chi-Square	19.858	22.685
df	9	9
Asymp. Sig.	.019	.007

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah liposom yang berdiameter kurang dari sama dengan 100
Bonferroni

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	-4.00	39.018	1.000	-152.44	144.44	
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	29.33	39.018	1.000	-119.10	177.77	
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	96.33	39.018	1.000	-52.10	244.77	
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	111.33	39.018	.442	-37.10	259.77	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-40.33	39.018	1.000	-188.77	108.10	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	-27.33	39.018	1.000	-175.77	121.10	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-33.67	39.018	1.000	-182.10	114.77	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	32.67	39.018	1.000	-115.77	181.10	
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	65.33	39.018	1.000	-83.10	213.77	
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	4.00	39.018	1.000	-144.44	152.44
		Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	33.33	39.018	1.000	-115.10	181.77
		LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	100.33	39.018	.820	-48.10	248.77
Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3		115.33	39.018	.352	-33.10	263.77	

	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-36.33	39.018	1.000	-184.77	112.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	-23.33	39.018	1.000	-171.77	125.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-29.67	39.018	1.000	-178.10	118.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	36.67	39.018	1.000	-111.77	185.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	69.33	39.018	1.000	-79.10	217.77
Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	-29.33	39.018	1.000	-177.77	119.10
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	-33.33	39.018	1.000	-181.77	115.10
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	67.00	39.018	1.000	-81.44	215.44
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	82.00	39.018	1.000	-66.44	230.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-69.67	39.018	1.000	-218.10	78.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	-56.67	39.018	1.000	-205.10	91.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-63.00	39.018	1.000	-211.44	85.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	3.33	39.018	1.000	-145.10	151.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	36.00	39.018	1.000	-112.44	184.44
LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	-96.33	39.018	1.000	-244.77	52.10
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	-100.33	39.018	.820	-248.77	48.10
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	-67.00	39.018	1.000	-215.44	81.44
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	15.00	39.018	1.000	-133.44	163.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-136.67	39.018	.101	-285.10	11.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	-123.67	39.018	.217	-272.10	24.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-130.00	39.018	.150	-278.44	18.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	-63.67	39.018	1.000	-212.10	84.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	-31.00	39.018	1.000	-179.44	117.44
Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	-111.33	39.018	.442	-259.77	37.10
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	-115.33	39.018	.352	-263.77	33.10
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	-82.00	39.018	1.000	-230.44	66.44

	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	-15.00	39.018	1.000	-163.44	133.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-151.67(*)	39.018	.041	-300.10	-3.23
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	-138.67	39.018	.090	-287.10	9.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-145.00	39.018	.061	-293.44	3.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	-78.67	39.018	1.000	-227.10	69.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	-46.00	39.018	1.000	-194.44	102.44
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	40.33	39.018	1.000	-108.10	188.77
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	36.33	39.018	1.000	-112.10	184.77
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	69.67	39.018	1.000	-78.77	218.10
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	136.67	39.018	.101	-11.77	285.10
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	151.67(*)	39.018	.041	3.23	300.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	13.00	39.018	1.000	-135.44	161.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	6.67	39.018	1.000	-141.77	155.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	73.00	39.018	1.000	-75.44	221.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	105.67	39.018	.609	-42.77	254.10
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	27.33	39.018	1.000	-121.10	175.77
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	23.33	39.018	1.000	-125.10	171.77
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	56.67	39.018	1.000	-91.77	205.10
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	123.67	39.018	.217	-24.77	272.10
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	138.67	39.018	.090	-9.77	287.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-13.00	39.018	1.000	-161.44	135.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-6.33	39.018	1.000	-154.77	142.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	60.00	39.018	1.000	-88.44	208.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	92.67	39.018	1.000	-55.77	241.10
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	33.67	39.018	1.000	-114.77	182.10
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	29.67	39.018	1.000	-118.77	178.10

	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	63.00	39.018	1.000	-85.44	211.44
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	130.00	39.018	.150	-18.44	278.44
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	145.00	39.018	.061	-3.44	293.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-6.67	39.018	1.000	-155.10	141.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	6.33	39.018	1.000	-142.10	154.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	66.33	39.018	1.000	-82.10	214.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	99.00	39.018	.882	-49.44	247.44
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	-32.67	39.018	1.000	-181.10	115.77
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	-36.67	39.018	1.000	-185.10	111.77
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	-3.33	39.018	1.000	-151.77	145.10
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	63.67	39.018	1.000	-84.77	212.10
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	78.67	39.018	1.000	-69.77	227.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-73.00	39.018	1.000	-221.44	75.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	-60.00	39.018	1.000	-208.44	88.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-66.33	39.018	1.000	-214.77	82.10
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	32.67	39.018	1.000	-115.77	181.10
Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 3	Liposom sonikasi + NaCl2 PH 7 hari 0	-65.33	39.018	1.000	-213.77	83.10
	Liposom sonikasi+ NaCl2 PH 7 hari 7	-69.33	39.018	1.000	-217.77	79.10
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 1	-36.00	39.018	1.000	-184.44	112.44
	LiposomSonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 2	31.00	39.018	1.000	-117.44	179.44
	Liposom Sonikasi + NaCl2 PH 7 Bulan 3	46.00	39.018	1.000	-102.44	194.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 0	-105.67	39.018	.609	-254.10	42.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Hari 7	-92.67	39.018	1.000	-241.10	55.77
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 1	-99.00	39.018	.882	-247.44	49.44
	Liposom Sonikasi + MgCl2 pH7 Bulan 2	-32.67	39.018	1.000	-181.10	115.77

* The mean difference is significant at the .05 level.

CURICULUM VITAE

1. Nama Lengkap : Reski Lepong Bulan
2. Nama Panggilan : Eki
3. Tempat dan Tanggal lahir : Kendari 7 November 1987
4. Jenis Kelamin : Perempuan
5. Agama : Kristen Protestan
6. Alamat tetap : Jln. Mekar Jr. Mandiri No 3
7. Nama Orang tua:
 - Ayah : Simon Tato' Tanan
 - Ibu : Yosephina Lepong Bulan
8. Alamat e-mail : r1an_cute@yahoo.com
9. Riwayat Pendidikan :
 - SDN 7 wua-wua tahun 1993-1999
 - SLTP 9 Kendari tahun 1999-2002
 - SLTA 1 Kendari tahun 2002-2005
 - Universitas Indonesia Fakultas Kedokteran tahun 2005-sekarang
10. Keterlibatan dalam Organisasi dan Kepanitiaan
 - Seksi Bidang V OSIS SLTP 9 Kendari periode 2000-2001
 - Seksi Bidang I OSIS SLTA 1 Kendari periode 2003-2004
 - Anggota Departemen Kaderisasi Senat Mahasiswa FKUI periode 2006-2008.
 - Anggota Seksi Acara Persekutuan Oikumene SMFKUI periode 2006-2008
 - Koordinator Seksi Acara Persekutuan Oikumene SMFKUI periode 2008-2010
11. Prestasi
 - Juara 1 Lomba membaca “Kisah Di Mata Pribadi Manusia Hatta” Tingkat SLTA Provinsi Sulawesi Tenggara.
 - Juara 2 Olimpiade Sains Fisika Nasional 2004 Tingkat SLTA Provinsi Sulawesi Tenggara.

- Juara Favorit Lomba Karya Tulis Ilmiah “ Tanah Sebagai Sumber Kehidupan” Tingkat SLTA provinsi Sulawesi Tenggara.

