

BAB II

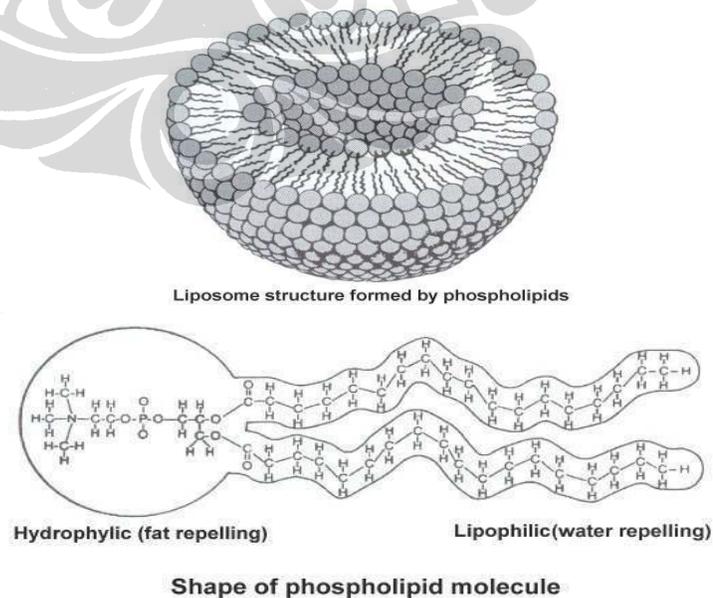
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Liposom

2.1.1 Komponen Penyusun Liposom

Liposom merupakan vesikel membran yang berukuran sangat kecil, berbentuk bulat dan tersusun atas lipid amfifilik yang menyelubungi inti air¹¹. Liposom dibentuk dengan cara mendispersikan suatu lipid, terutama fosfolipid, ke dalam media cair. Struktur dan kegunaan liposom ditemukan pertama kali oleh Alec Bangham dari Cambridge pada awal tahun 1960, dan sejak saat itu liposom menjadi alat yang multifungsional dalam bidang biologi, biokimia dan kesehatan¹⁸.

Komponen utama digunakan untuk membentuk liposom adalah fosfolipid karena lipid jenis ini dapat membentuk lapis ganda yang menyerupai lapis lipid ganda pada membran biologis^{13,14}. Struktur liposom yang dibentuk dari fosfolipid diperlihatkan pada Gambar 2. Fosfolipid merupakan komponen struktural membran biologi yang terutama terdiri dari fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, dan fosfatidilinositol. Bergantung pada jenis sel, lipid lain seperti sfingomielin, kardiolipin, dan kolesterol dapat pula dijumpai pada membran sel^{14, 24-27}.



Gambar 2. Liposom dan Struktur Liposom²⁸

Lipid yang bersifat netral adalah sfingomielin dan fosfatidiletanolamin, sedangkan lipid yang bermuatan negatif adalah fosfolipid asam seperti dipalmitoil-fosfatidilgliserol (DPPG) dan dipalmitoil-fosfatidilkolin (DPPC). Dengan teknik tertentu, masing-masing komponen tersebut saat ini sudah tersedia dalam bentuk ekstrak murni yang berasal dari kuning telur, jaringan otak, kedelai, ataupun dalam bentuk sintesisnya^{14,27}.

Fosfolipid yang lazim digunakan pada pembuatan liposom konvensional adalah fosfatidilkolin (lesitin). Fosfatidilkolin adalah molekul amfipatik dimana jembatan gliserol menghubungkan sepasang rantai asil hidrokarbon hidrofobik, dengan kepala polar hidrofilik, fosfokolin. Fosfatidilkolin berasal dari kuning telur (*Egg-yolk PhosphatidylCholine* / EPC), jaringan otak, kedelai, atau yang dibuat secara sintetik. Lipid bermuatan seperti fosfatidilserin atau fosfatidilgliserol seringkali ditambahkan sebagai stabilisator. Selain itu, kolesterol juga dapat ditambahkan untuk memperbaiki stabilitas mekanis dan untuk menurunkan kebocoran senyawa aktif melalui membran. Lipid lain yang dapat digunakan sebagai stabilisator membran liposom, yang saat ini masih dikembangkan adalah tetraeter lipid (TEL) dari membran Archaea, antara lain *Thermoplasma acidophilum* dan *Sulfolobus acidocaldarius*. Jenis lipid tersebut dapat pula dihasilkan dari polimerasi senyawa yang mudah berpolimerasi, antara lain 1,3 butadin, butadiene dan metakrilat¹⁴.

2.1.2 Bentuk dan Proses Pembentukan Liposom

Diameter atau ukuran liposom sangat ditentukan oleh beberapa hal, antara lain: 1) Jenis lipid dan kombinasinya. Sebagai contoh, liposom yang terbuat dari campuran EPC dan kolesterol, berdiameter lebih besar (100-200 nm) dibandingkan dengan liposom dari EPC saja (<100 nm). 2) Keseimbangan antara energi untuk membuka membran liposom, elastisitas kelengkungan liposom dan jumlah energi yang tersebar, dan 3) Cara pembuatan. Ukuran liposom dapat bervariasi antara 20 nm hingga 100 µm dengan ketebalan dwilapis lipid sebesar 4 nm.

Untuk aplikasi di bidang kedokteran, digunakan liposom berukuran 80-200 nm dan harus memenuhi ketepatan persyaratan yang meliputi: konsentrasi lipid dan obat, distribusi ukuran liposom, pH, osmolaritas, konduktivitas, adanya kemungkinan produk hasil degradasi, endotoksin dan parameter-parameter lainnya¹⁶.

Liposom juga dapat dibagi berdasarkan jumlah lamela, antara lain: *small unilamellar vesicles* (SUV), *large unilamellar vesicles* (LUV), *large multilamellar vesicles* (LMV), dan *multivesicular vesicles* (MVV). SUV memiliki diameter mulai dari 20 hingga kurang lebih 100 nm. LUV, LMV, dan MVV memiliki ukuran dengan kisaran ratusan nanometer hingga beberapa mikron. Ketebalan membran liposom (lapis ganda fosfolipid) berkisar antara 5 sampai 6 nm¹¹.

Jumlah lapisan membran dan besar ukuran liposom ditentukan oleh cara pembuatannya. Liposom atau vesikel, yang dibuat dengan cara *hand-shaken* akan berbentuk multilamellar dan berukuran besar (LMV). Ukuran liposom tersebut dapat diperkecil menjadi SUV dengan cara mengekstrusinya melalui membran polikarbonat 100 nm atau dengan cara sonikasi menggunakan *probe* atau sonikasi di dalam air. Pembuatan liposom dengan cara dialisis terhadap *mixed-micelles* dengan deterjen atau dengan cara *reverse phase evaporation*, *freeze-thawing sonication*, perubahan pH dan penambahan kalsium, akan membentuk LUV. Sonikasi terhadap LUV akan dihasilkan SUV. Hal yang sama dapat diperoleh dengan cara lain yaitu dengan *freeze-thawing*, *french pressure cell* yang bertekanan tinggi dan metode injeksi secara cepat menggunakan etanol atau eter^{17,18}.

2.1.3 Stabilitas Liposom

Karakteristik liposom, seperti kekuatan dan kestabilan, sangat ditentukan oleh komponen penyusunnya. Sebagai contoh, fosfolipid jenuh seperti *dipalmitoyl-phosphatidylcholine* membentuk struktur lipid yang kokoh tetapi impermeabel. Sebaliknya, fosfolipid tak jenuh seperti *phosphatidylcholine* yang berasal dari sumber alami (kuning telur atau

kacang kedelai) membentuk struktur yang permeabel tetapi kurang stabil²⁹. Liposom yang pertama kali dikembangkan belum bersifat menguntungkan karena stabilitasnya masih rendah dan waktu paruhnya yang singkat meskipun disimpan dalam fase pendingin¹⁹.

Stabilitas penyimpanan liposom dapat ditingkatkan dengan penambahan asam fosfatidat, tetapi peningkatan stabilitas yang diperoleh masih belum cukup untuk memenuhi berbagai tujuan. Di samping itu, salah satu tipe liposom (*conventional liposome*) bersifat tidak stabil dalam asam dan tidak dapat bertahan dalam proses pencernaan pada usus kecil. Akibatnya, liposom ini tidak cocok untuk transpor substansi farmatik aktif yang setelah pemberian oral akan melalui proses pencernaan dalam lambung dan usus kecil.

Oleh karena itu, berbagai usaha telah dilakukan untuk menemukan liposom dengan kombinasi baru. Salah satu jenis substansi yang menjanjikan adalah derivat tetraeter lipid, seperti yang dapat diperoleh dari sumber alami. Liposom yang dibentuk dari kombinasi demikian menunjukkan perbaikan dan dapat menutupi kekurangan oleh liposom konvensional. Walaupun demikian, tidak seluruh turunan tetraeter lipid yang telah ditemukan sesuai untuk membentuk liposom¹⁹.

Berbagai percobaan dan penelitian terus dilakukan untuk mendapatkan komposisi liposom yang tepat untuk membentuk liposom yang stabil secara fisik, kimia dan biologis sehingga dapat digunakan dengan mudah dan aman. Selain itu, komposisi liposom tersebut hendaknya dapat membentuk berbagai variasi liposom sesuai dengan tujuan dan fungsi yang dikehendaki¹⁹.

2.1.4 Aplikasi Liposom

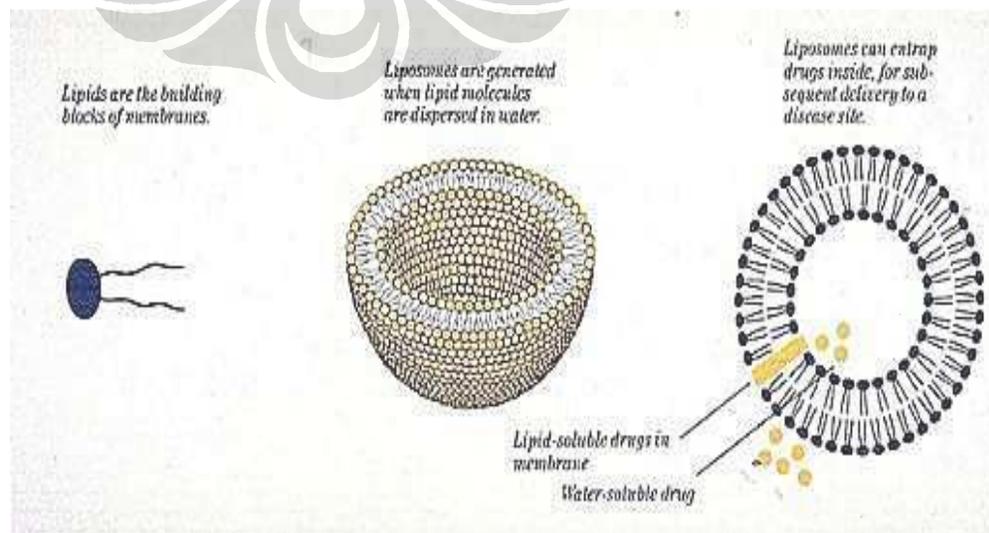
Liposom yang digunakan sebagai pembawa obat, dapat membawa substansi hidrofilik dalam inti airnya. Substansi amfifilik dan lipofilik dapat diinkorporasikan pada lapis ganda lipid¹¹.

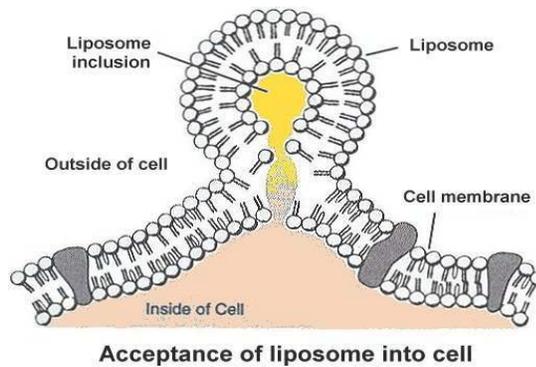
Untuk bahan obat yang bersifat lipofilik, bentuk liposom multilamellar merupakan pilihan utama, karena jumlah obat yang akan dibawa dan yang

terikat pada membran akan lebih banyak. Untuk bahan yang bersifat hidrofilik, besarnya vesikel liposom, yang umumnya hanya terdiri atas satu lapis membran, menentukan jumlah obat yang akan dibawa.^{27,30}

Persyaratan untuk penggunaan liposom sebagai pembawa obat adalah stabilitas, baik fisik, kimia, maupun biologi dan jumlah lapisan membran lipid per liposom^{14,15}. Liposom yang stabil secara fisik, kimia, dan biologi akan dapat membawa obat dengan lebih baik hingga mencapai target dan tujuannya.

Liposom dapat membawa obat pada target tertentu. Misalnya, *long-circulating liposomes* merupakan liposom dengan target selektif pada area patologis tertentu dalam tubuh. Struktur liposom sebagai pembawa obat dapat diperlihatkan pada Gambar 3. Liposom juga dapat meningkatkan efektivitas obat dengan melepaskannya secara perlahan-lahan³¹. Dengan demikian, dosis dan frekuensi pemberian obat dapat diturunkan yang secara tidak langsung menurunkan efek samping obat terhadap tubuh pasien. Di samping itu, liposom dapat melindungi obat dari degradasi metabolik oleh enzim metabolisme. Sebaliknya, liposom melindungi pasien dari efek samping obat karena komponen tubuh tidak langsung terpapar oleh dosis penuh dari obat yang digunakan. Aplikasi lainnya, liposom dapat melarutkan obat lipofilik yang sulit diberikan secara intravena. Dengan melarutkannya dalam liposom, obat lipofilik tersebut menjadi lebih mudah diberikan³².





Gambar 3. Liposom sebagai pembawa obat ³³

2.2 *Thermoplasma acidophilum*

Thermoplasma acidophilum (*T. acidophilum*) merupakan *archaebacterium* asidofilik dengan pertumbuhan optimum pada suhu 59⁰C antara pH 1-2 ³⁴. Membran dari *T. acidophilum* terdiri dari 3 fraksi utama: lipid apolar, glikolipid dan glikophospholipid. Struktur dasar dari lipid membran adalah sebuah *diphytanylglyceroltetraether* berasal dari dua cincin C₄₀ isoprenoid. Membran lipid bipolar ini membentuk liposom yang stabil hingga diameter minimum (150 nm)³⁵.

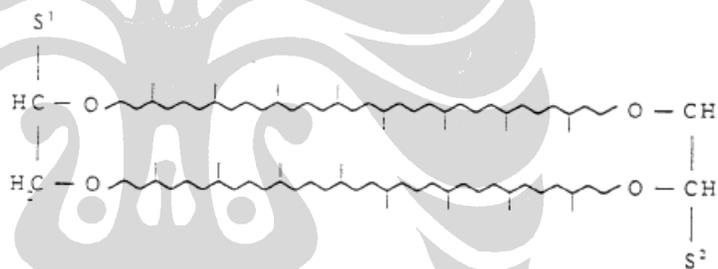
Liposom dengan fosfolipid utama dari *Thermoplasma acidophilum* ini tidak dihancurkan oleh agen oksidasi dan hidrolisis seperti asam. Resistensi liposom dari fosfolipid utama terhadap keasaman dan impermeabilitas terhadap proton dapat melindungi kandungan yang labil melewati pH asam selama di lambung, seperti protein dan peptida. Liposom sebagai kapsul dapat memungkinkan bahan-bahan yang labil melewati rute gastrointestinal. Pada penelitian yang dilakukan oleh Freisleben, dkk pada sel hidup membuktikan bahwa TEL dari *T. acidophilum* tidak bersifat toksik dan antimutagenik^{36,37}.

2.3 Tetraeter Lipid

Tetraeter lipid (TEL) merupakan hasil salah satu hasil ekstraksi dari Archaea yang berasal dari *Thermoplasma acidophilum*^{34,38} dan *Sulfolobus acidocaldarius*. TEL yang berasal dari *Thermoplasma acidophilum* telah teruji tidak toksik dan tidak bersifat mutagenik dan antimutagenik, secara *in*

vitro dan *in vivo*^{35,36}, sedangkan pada *Sulfolobus acidocaldarius* belum teruji. Struktur kimia dari TEL *Thermoplasma acidophilum* dapat diperlihatkan pada Gambar 4.

Fosfolipid yang diekstraksi dari membran *Thermoplasma acidophilum* atau *Sulfolobus acidocaldarius* berupa eter-gliserol atau derivat poliol lain (nonitol dari membran *Sulfolobus acidocaldarius*) yang membentuk lapisan lipid monolayer, berbeda bila dibandingkan dengan dengan fosfolipid pada membran sel lain berupa ester-gliserol yang membentuk lapisan bilayer. Ikatan eter-gliserol sangat resisten terhadap hidrolisis pada pH rendah sehingga memberi keuntungan dibandingkan dengan ikatan ester. Ketiadaan ikatan rangkap (monolayer) dalam struktur TEL meningkatkan resistensi terhadap oksidasi, sedangkan adanya gugus metil samping akan menambah efek fluiditas. Jadi, TEL bersifat stabil dengan ikatan yang cukup erat^{30,34,39,40}.



Gambar 4. TEL *Thermoplasma Acidophilum*⁴¹

Uji stabilitas liposom yang berasal dari TEL *Thermoplasma acidophilum* menunjukkan, bahwa TEL ini cukup stabil pada pH rendah dibandingkan pada pH netral ataupun alkalis. Kombinasi TEL dengan lesitin telur juga menunjukkan kestabilan yang cukup tinggi. Uji stabilitas liposom TEL diukur berdasarkan ukuran partikel dengan menggunakan *particle sizer* dan penglepasan karboksifluoresens dari membran liposom³⁷.

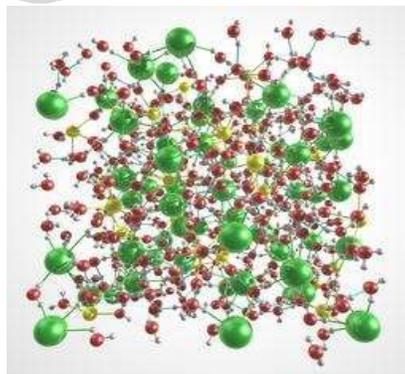
Ukuran partikel liposom sangat bervariasi bergantung cara pembuatannya. Dengan menggunakan *French Pressure cell*, ukuran liposom berkisar antara 120 nm, dan dengan cara pengocokan menggunakan tangan (*hand-shaken*) ukuran liposom sangat besar sekitar 7500 nm. Liposom ini dapat diperkecil dengan cara sonikasi dengan hasil sekitar 600 nm, dialisis dengan deterjen

yang menghasilkan liposom berukuran 370-450 nm, dan ekstrusi melalui membran polikarbonat berpori 100 dan 200 nm.

2.4 Kalsium Klorida (CaCl₂)

Kalsium klorida (CaCl₂), merupakan senyawa ionik dari kalsium dan klorin. Senyawa ini sangat larut dalam air. Senyawa ini dapat dihasilkan secara langsung dari batu kapur, tetapi dalam jumlah yang besar juga di hasilkan dari *Solvay process*⁴². Struktur kalsium klorida ini dapat dilihat pada Gambar 5.

Kalsium klorida merupakan garam berbentuk padat pada suhu ruangan. Kalsium klorida dapat diinjeksikan sebagai terapi intravena untuk tatalaksana hipokalsemia. Juga bisa digunakan untuk : gigitan atau sengatan serangga (seperti gigitan *Black Widow Spider*); reaksi hipersensitivitas, terutama jika bercirikan urtikaria; intoksikasi magnesium; pada resusitasi jantung, terutama setelah operasi bedah jantung terbuka. Kalsium parenteral bisa digunakan saat epinefrin gagal meningkatkan kontraksi miokardium yang lemah. Kalsium klorida bisa membantu menurunkan jumlah tinggi potasium serum pada hiperkalemi. Juga bisa digunakan untuk tatalaksana toksisitas *Calcium Channel Blocker*, dari efek samping obat seperti Dilziatem, membantu menghindari kemungkinan serangan jantung. Bentuk cair kalsium klorida digunakan dalam transformasi genetik oleh sel dengan meningkatkan permeabilitas membran, menginduksi kompetensi untuk ambilan DNA (memungkinkan fragmen DNA memasuki sel lebih cepat).⁴²



Gambar 5. Struktur kalsium klorida⁴³

2.5 Kerangka Konsep

