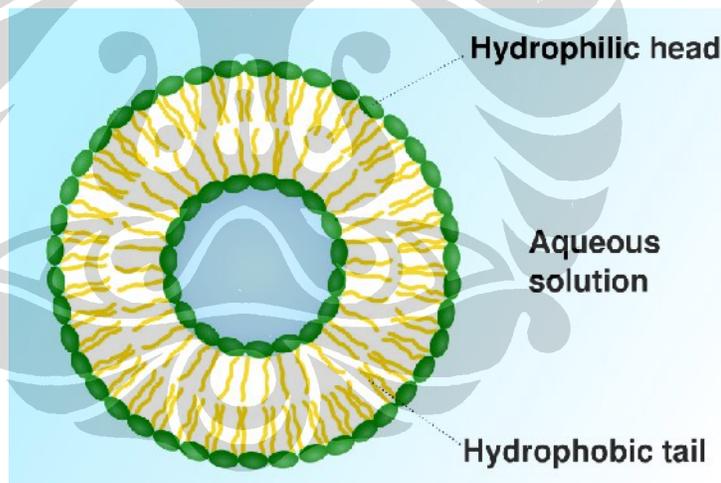


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Liposom

Liposom merupakan vesikel sederhana dimana sejumlah cairan ditutupi seluruhnya oleh membran yang tersusun dari molekul lipid (biasanya berupa fosfolipid). Liposom pertama kali ditemukan oleh Alec Bangham dari Cambridge pada awal tahun 1960. Liposom terbentuk secara spontan, ketika lipid terdispersikan dalam media cair, yang kemudian membentuk vesikel-vesikel dengan diameter bervariasi. Liposom dapat dibuat dari bahan-bahan alami sehingga struktur membran liposom menyerupai membran biologis sehingga dapat didegradasi dengan cara yang sama. Hal ini menjadikan liposom aman dan efisien digunakan sebagai pembawa obat untuk aplikasi medis.<sup>2,20</sup> Struktur liposom dapat dilihat pada Gambar 1.<sup>21</sup>

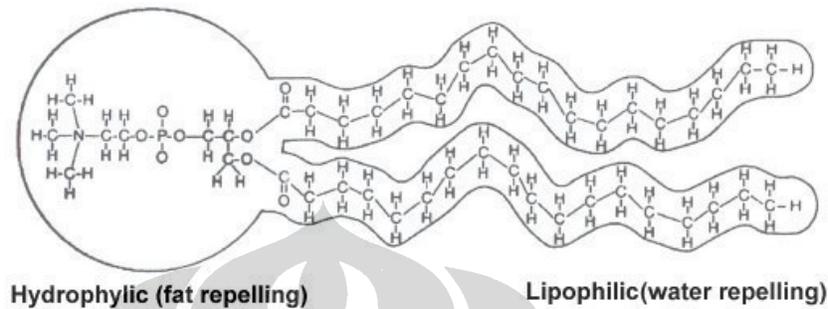


Gambar 1. Struktur Liposom<sup>21</sup>

##### 2.1.1 Struktur Kimia Liposom

Komponen utama yang digunakan untuk membentuk liposom adalah fosfolipid karena lipid jenis ini dapat membentuk lapis ganda yang menyerupai membran biologis.<sup>10</sup> Fosfolipid merupakan komponen struktural membran biologis yang terutama terdiri atas fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin dan fosfatidilinositol. Bergantung pada jenis sel, lipid lain misalnya

sfingomielin, kardiolipin dan kolestrol dapat pula dijumpai pada membran sel.<sup>22,23,24</sup> Bentuk molekular fosfolipid yang terdiri dari satu kepala yang hidrofilik dan dua ekor yang lipofilik dapat dilihat pada Gambar 2.<sup>25</sup>



### Shape of phospholipid molecule

Gambar 2. Bentuk Molekular Fosfolipid<sup>25</sup>

Lipid yang bersifat netral adalah sfingomielin dan fosfatidiletanolamin, sedangkan lipid yang bermuatan negatif adalah fosfolipid asam misalnya dipalmitoil-fosfatidilgliserol (DPPG) dan dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC). Dengan teknik-teknik tertentu, masing-masing komponen tersebut saat ini sudah tersedia dalam bentuk ekstrak murni dari kuning telur, jaringan otak, kedelai ataupun dalam bentuk sintetisnya.<sup>12,20</sup> Dari kombinasi berbagai komponen membran tersebut, liposom dapat dibuat dan telah diuji efeknya sebagai pembawa berbagai obat secara *in vitro* dan *in vivo*, topikal atau parenteral.<sup>9,26,27</sup>

Fosfolipid yang lazim digunakan pada pembuatan liposom konvensional adalah lesitin (fosfatidilkolin) dari kuning telur (*Egg-yolk PhosphatidylCholine* = EPC), jaringan otak, kedelai (*Soy-bean PhosphatidylCholine* = SPC) atau yang dibuat secara sintetik. Lipid bermuatan seperti fosfatidilserin atau fosfatidilgliserol seringkali ditambahkan sebagai stabilisator. Kolestrol dapat juga ditambahkan untuk memperbaiki stabilitas mekanis dan untuk menurunkan kebocoran senyawa aktif melalui membran.<sup>12</sup>

Fosfolipid yang paling umum digunakan adalah molekul fosfatidilkolin (PC), suatu molekul amfipatik dimana sebuah jembatan gliserol menghubungkan sepasang rantai asil hidrokarbon hidrofobik, dengan sebuah kepala polar

hidrofilik, fosfokolin. Molekul fosfatidilkolin tidak larut di dalam air dan di dalam media cair, molekul ini menyusun diri, membentuk lapisan bilayer untuk meminimalisir interaksi yang tidak diinginkan antara cairan dengan rantai asam lemak hidrokarbon. Sehingga akan terbentuk suatu vesikel yang tertutup rapat. Molekul surfaktan, seperti dioktadesil amonium klorida (DODAC), mengandung dua rantai karbon dalam jumlah tertentu, juga membentuk membran vesikel bilayer.<sup>20</sup>

Lipid lain yang dapat digunakan sebagai stabilisator membran liposom, yang saat ini masih belum banyak digunakan adalah tetraeter lipid (TEL) dari membran sel Arcahea, yaitu antara lain *Thermoplasma acidophilus*<sup>15,28</sup> dan *Sulfolobus acidocaldarius*.<sup>28</sup> Jenis lipid tersebut dapat pula dihasilkan dari polimerisasi senyawa yang mudah berpolimerisasi, antara lain 1,3 butadin, butadien, dan metakrilat.<sup>12</sup>

### 2.1.2 Struktur Fisik Liposom

Liposom dapat juga dikarakterkan melalui ukuran dan bentuknya. Ukuran liposom bervariasi mulai dari yang paling kecil yaitu ~25 nm sampai yang dapat dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan diameter 1000 nm (satu mikron) atau bahkan lebih besar. Bentuknya dapat berupa membran bilayer tunggal atau dapat tersusun dari lamelar membran konsentris multipel. Klasifikasi liposom berdasarkan bentuk dan ukuran merupakan indeks karakteristik yang saat ini digunakan. Liposom dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

#### 1. *Multilamellar vesicles (MLVs)*

Ukuran vesikel MLV adalah 100-1000 nm dan setiap vesikel biasanya terdiri dari lima atau lebih lamelar konsentris. Vesikel yang hanya terdiri dari sedikit lamelar konsentris kadang-kadang disebut liposom oligo-lamelar, atau vesikel paucilamelar.

#### 2. *Small unilamellar vesicles (SUVs)*

SUV merupakan liposom dengan limit ukuran terkecil. Batas limit ini bervariasi berdasarkan kekuatan ion pada medium cair dan komposisi lipid membran. Pada salin normal ukuran lesitin telur murni kira-kira 15 nm dan

liposom DPPC 25 nm. Populasi liposom ini biasanya mempunyai ukuran yang relatif homogen.

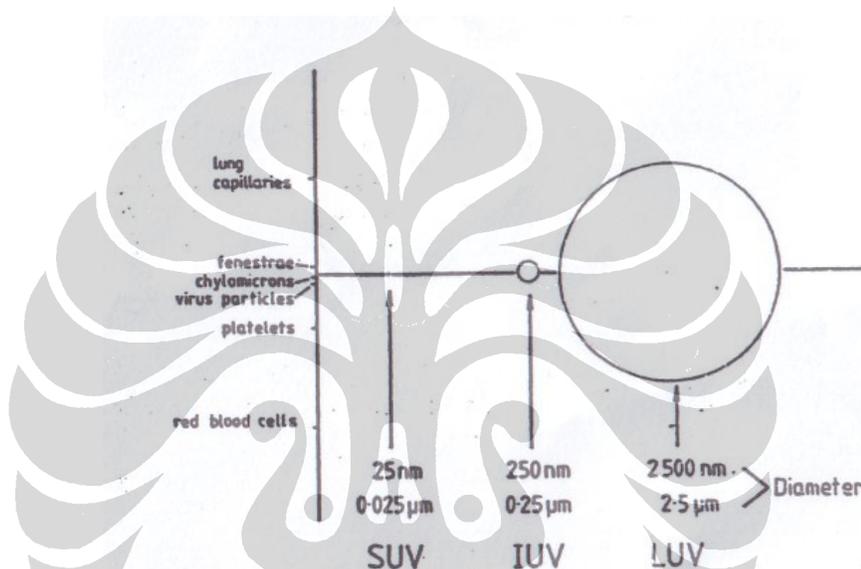
3. *Large unilamellar vesicles (LUVs)*

Kelompok liposom ini berdiameter 1000 nm.

4. *Intermediate-sized unilamellar vesicles (IUVs)*

Istilah ini biasanya tidak ditemukan di literatur. IUVs berdiameter 100 nm.

Pada Gambar 3, dapat dilihat perbandingan ukuran liposom SUV, IUV, dan LUV dengan struktur biologis.<sup>20</sup>

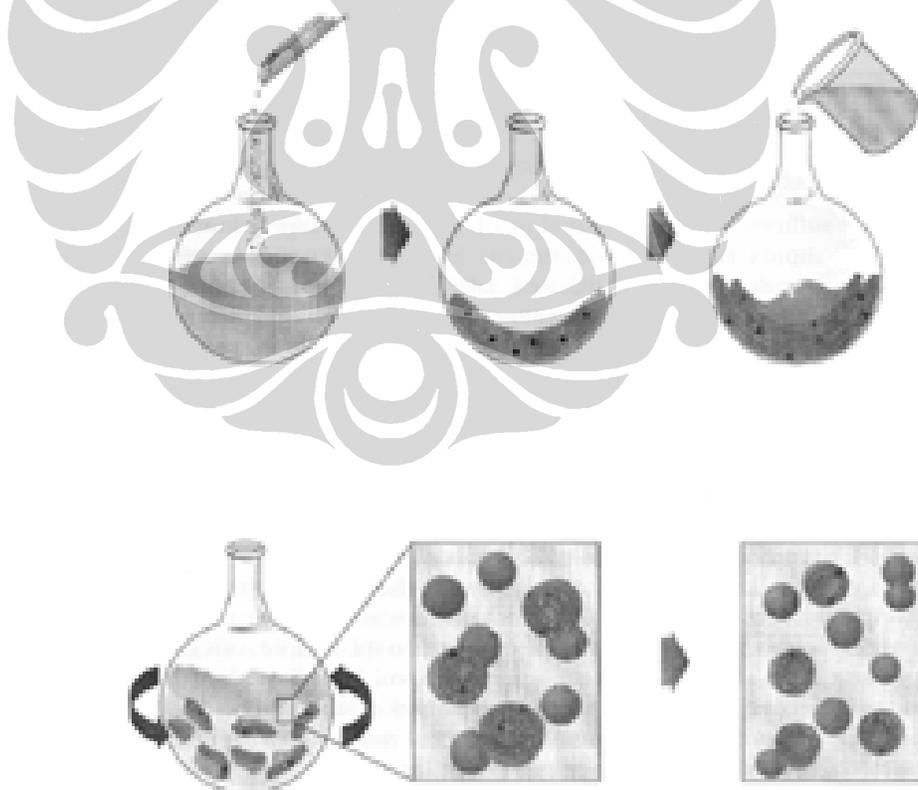


Gambar 3. Perbandingan Ukuran Liposom<sup>20</sup>

Pada kenyataannya, kebanyakan metoda preparasi liposom menghasilkan populasi vesikel yang heterogen dengan distribusi ukuran yang luas.<sup>20</sup> Diameter dan ukuran liposom sangat ditentukan oleh beberapa hal, antara lain: 1) Jenis lipid dan kombinasinya. Sebagai contoh, liposom yang terbuat dari campuran EPC dan kolestrol, berdiameter lebih besar ( $\pm$  100-200 nm) dibandingkan 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, biasanya digunakan liposom berukuran 80-200 nm.<sup>10</sup>

### 2.1.3 Preparasi Liposom

Jumlah lapisan membran dan ukuran liposom ditentukan oleh cara pembuatannya. Liposom atau vesikel yang dibuat dengan cara *hand-shaken* akan berbentuk multilamellar dan berukuran besar (*LMV= Large Multilamellar Vesicle*). Ukuran liposom tersebut dapat diperkecil menjadi *SUV = Small Unilamellar Vesicle* 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 detergen atau dengan cara *reverse phase evaporation*, *Freeze-thawing sonication*, perubahan pH dan penambahan kalsium, akan dihasilkan *LUV = Large Unilamellar Vesicle*. Sonikasi terhadap *LUV* akan dihasilkan *SUV = Small Unilamellar Vesicle*. Hasil 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.<sup>26,27</sup> Skema pembuatan liposom dapat dilihat pada Gambar 4.<sup>28</sup>

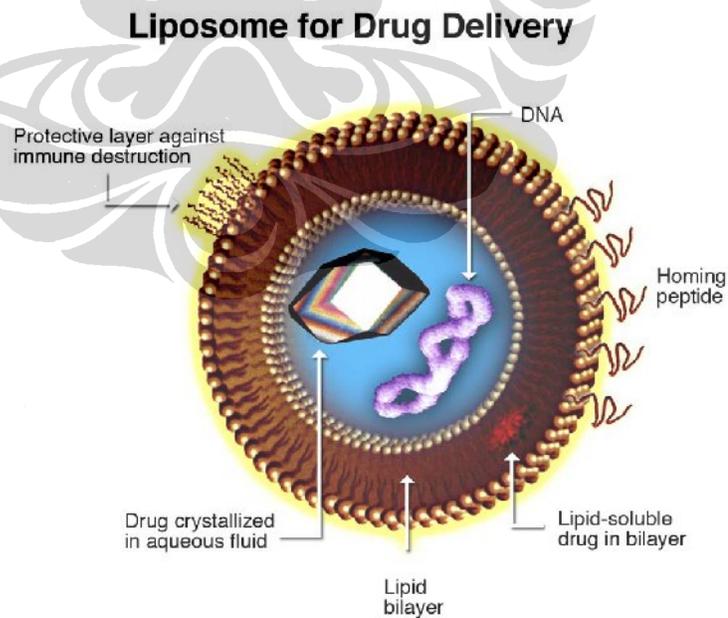


Gambar 4. Skema Pembuatan Liposom<sup>28</sup>

#### 2.1.4 Aplikasi Liposom

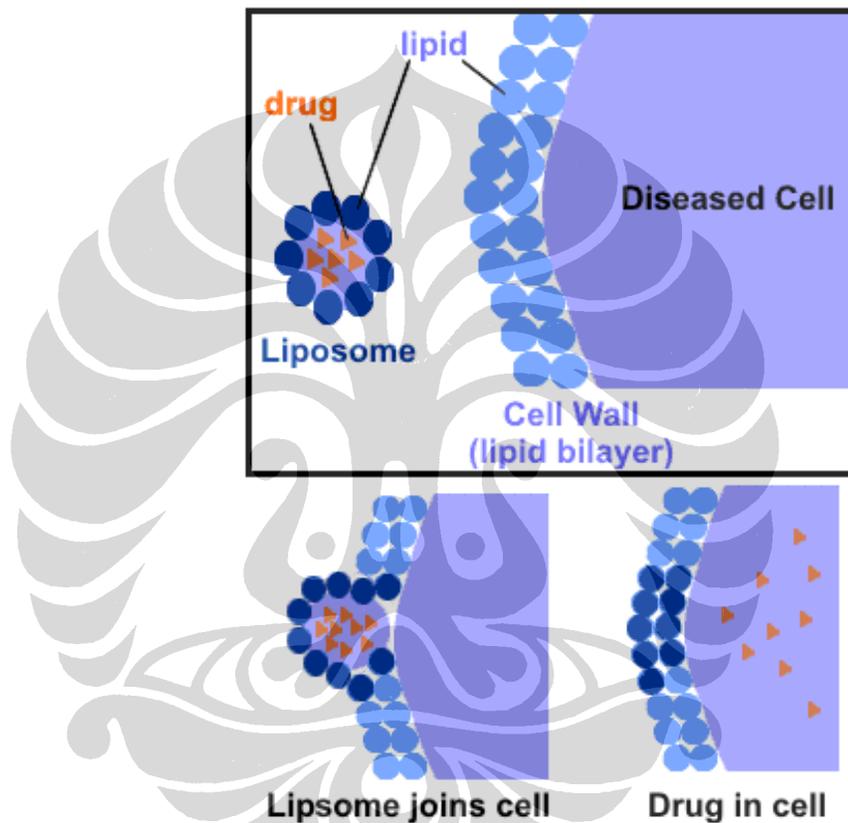
Liposom digunakan untuk membawa vaksin, enzim, atau obat tertentu (seperti insulin atau beberapa obat kanker) ke dalam tubuh. Ketika digunakan sebagai pembawa obat kanker tertentu, liposom melindungi sel dari toksisitas obat dan menjaga konsentrasinya pada organ yang rentan (seperti ginjal dan hati), mengurangi atau menghilangkan efek samping obat seperti mual, *fatigue*, dan rambut rontok. Liposom terutama efektif dalam mengobati penyakit yang mempengaruhi fagosit pada sistem imun karena kecenderungan liposom untuk berakumulasi di fagosit. Liposom juga sedang diteliti untuk membawa gen normal ke dalam sel untuk mengganti yang rusak, penyakit yang disebabkan oleh kelainan gen (terapi gen). Liposom kadang juga digunakan untuk kosmetik karena efeknya yang melembutkan.<sup>29</sup>

Sebagai pembawa obat, liposom dapat membawa molekul obat dengan berbagai cara yaitu, terikat dengan membran liposom, terinkalasi di antara dwilapis lipid, terlarut dalam dwilapis lipid atau terlarut di dalam vesikel. Molekul obat dapat larut dalam air, terionisasi atau membentuk kelompok hidrofob dengan asam nukleat atau makromolekul lain tanpa berikatan secara fisik.<sup>2</sup> Gambar 5 menunjukkan struktur skematis liposom yang digunakan sebagai pembawa obat.<sup>21</sup>



Gambar 5. Struktur Skematis Liposom Sebagai Pembawa Obat<sup>21</sup>

Liposom dapat mengeluarkan isinya dengan berbagai cara. Yang pertama, liposom melepaskan isinya melalui penyatuan sempurna lipid pada liposom dengan membran sel, seperti pada Gambar 6.<sup>11</sup> Melalui cara ini, isi liposom akan terpapar langsung dengan sitoplasma sel dan tetap diselubungi membran biologis. Yang kedua, isi liposom dilepaskan ke ruang interstisial. Dengan demikian, transpor paraseluler substansi aktif dalam liposom dapat berlangsung pada usus halus melalui dinding usus.<sup>11</sup>



Gambar 6. Mekanisme Pelepasan Isi Liposom melalui Fusi Membran<sup>11</sup>

Untuk bahan obat yang bersifat lipofilik, bentuk liposom multilamellar merupakan pilihan utama, karena jumlah obat yang akan dibawa, 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.<sup>2</sup>

Pada aplikasi di bidang kedokteran, liposom harus memenuhi ketepatan persyaratan yang meliputi: konsentrasi lipid dan obat, distribusi ukuran liposom,

presentase molekul obat bebas yang tidak terinkorporasi pada membran liposom, pH, osmolaritas, konduktivitas, adanya kemungkinan produk hasil degradasi, endotoksin dan parameter-parameter lainnya.<sup>10</sup> Persyaratan lain untuk penggunaan liposom sebagai pembawa obat adalah stabilitas, baik fisik, kimia maupun biologi<sup>12,16</sup>.

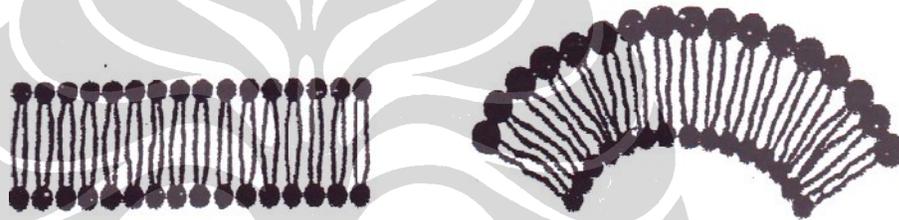
Liposom memberikan beberapa keuntungan sebagai pembawa obat, antara lain:

1. Liposom dapat membawa obat pada target tertentu. Misalnya, *long-circulating liposomes* merupakan liposom dengan target selektif pada area patologis tertentu dalam tubuh.
2. Liposom dapat meningkatkan efektivitas obat dengan melepaskannya secara perlahan-lahan.<sup>29</sup> Dengan demikian, memperpanjang waktu paruh obat sehingga dosis dan frekuensi pemberian obat dapat diturunkan, yang secara tidak langsung menurunkan efek samping obat terhadap tubuh pasien.
3. Liposom dapat melindungi obat dari degradasi metabolik oleh enzim metabolisme.
4. Liposom melindungi pasien dari efek samping obat karena komponen tubuh tidak langsung terpapar oleh dosis penuh dari obat yang digunakan.
5. Liposom dapat melarutkan obat lipofilik yang sulit diberikan secara intravena. Dengan melarutkannya dalam liposom, obat lipofilik tersebut menjadi lebih mudah diberikan.<sup>30</sup>
6. Liposom mudah dibuat dan lebih murah dibandingkan dengan zat pembawa obat lainnya.

## 2.2 Tetra Eter Lipid

Tetraeter lipid (TEL) merupakan salah satu produk hasil ekstraksi dari Archaea yang berasal dari *Thermoplasma acidophilum* dan *Sulfolobus acidocaldarius*.<sup>15,16</sup> TEL yang berasal dari *Thermoplasma acidophilum* telah teruji tidak toksik dan tidak bersifat mutagenik atau antimutagenik, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.<sup>17,18</sup> Sedangkan TEL yang berasal dari *Sulfolobus acidocaldarius* telah digunakan dalam penelitian, namun toksisitasnya belum teruji seperti pada *Thermoplasma acidophilum*.

Fosfolipid yang diekstraksi dari membran *Thermoplasma acidophilum* atau *Sulfolobus acidocaldarius* berupa eter-gliserol atau derivat poliol lain yang membentuk lapisan lipid monolayer, berbeda bila dibandingkan 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. Oleh karena itu, liposom monolayer yang dibentuk dari tetraeter lipid (TEL) dari Archaea tersebut, bersifat stabil dengan ikatan yang cukup erat.<sup>12,32</sup> Membran liposom dari TEL yang terdiri atas satu lapis lipid dapat dilihat pada Gambar 7.<sup>2</sup>

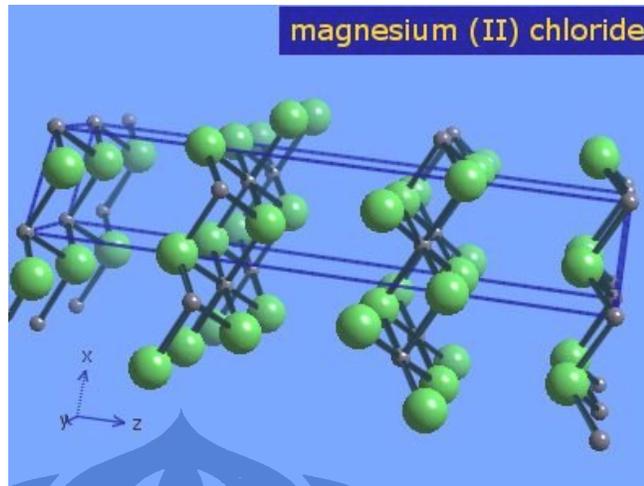


Gambar 7. Membran Liposom dari TEL yang Terdiri Atas Satu Lapis Lipid<sup>2</sup>

Sampai saat ini belum ada satupun bukti tentang mekanisme interaksi TEL dengan membran sel hidup. Dugaan sementara dari hasil penelitian secara *in vitro*, interaksi TEL dengan membran sel adalah secara fusi membran, pertukaran lipid intramembran dan endositosis. Demikian pula halnya dengan degradasi TEL di dalam sel hingga kini belum dapat dijelaskan dengan baik karena produk standar hasil degradasi TEL belum tersedia.<sup>12,32</sup>

### 2.3 Magnesium Klorida (MgCl<sub>2</sub>)

Magnesium klorida merupakan suatu senyawa kimia dengan formula MgCl<sub>2</sub>. Garam ini merupakan jenis halida ionik, yang sangat larut di dalam air.<sup>33</sup> Garam ini merupakan mineral alami. Magnesium berperan penting pada beberapa sistem di tubuh terutama otot dan saraf.<sup>34</sup> Struktur kimia magnesium klorida dapat dilihat pada Gambar 8.<sup>33</sup>



Gambar 8. Struktur Kimia Magnesium Klorida<sup>33</sup>

Delbert<sup>35</sup> menemukan, bahwa magnesium klorida merupakan suatu imunostimulan kuat yang dapat diberikan secara oral maupun parenteral, sehingga dikatakan garam ini mempunyai efek sitofilaksis. Pada beberapa penelitian *in vivo*, garam ini mampu meningkatkan fagositosis sampai 300%. Selain itu ditemukan pula hasil yang baik pada kolitis, angiokolitis, kolesistitis pada saluran cerna; penyakit Parkinson, tremor senile, kram otot pada sistem saraf; akne, eksim, psoriasis, dan kutil pada kulit. Garam ini juga dapat menguatkan rambut dan kuku serta efek yang baik pada penyakit yang berhubungan dengan penuaan (seperti impotensi, hipertrofi prostat) dan penyakit yang disebabkan oleh alergi (*hay-fever*, asma, urtikaria, dan reaksi anafilaksis).<sup>35</sup>

Kemudian, Delbert<sup>35</sup> mulai menginvestigasi hubungan antara magnesium dan kanker. Setelah uji eksperimental dan klinis dilakukan, ditemukan bahwa magnesium klorida mempunyai efek yang sangat baik dalam pencegahan kanker dan juga dapat mengobati kondisi pre-kanker seperti leukoplasia, hiperkeratosis dan mastitis kronik. Penelitian epidemiologis juga menunjukkan daerah yang tanahnya kaya akan magnesium memiliki insidens terkena kanker yang rendah dan sebaliknya.<sup>35</sup>

## 2.4 Kerangka Konsep

