

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Melalui kalibrasi yang telah dilakukan, didapat hasil bahwa lebar antara dua garis kamar hitung dengan skala Olympus (100 nm) setara dengan 70,33 piksel pada program komputer *Image pro Express*. Nilai ini merupakan rata-rata dari tiga kali pengukuran, dengan hasil masing-masing pengukuran adalah 70,29 piksel, 70,37 piksel, dan 70,33 piksel. Karena 100 nm setara dengan 70,33 piksel, yang dibulatkan menjadi 70 piksel, maka rumus yang dipakai untuk mendapatkan diameter liposom dalam nanometer adalah:

$$\text{Diameter liposom (nm)} = \frac{n}{70} \times 100 \text{ nm}$$

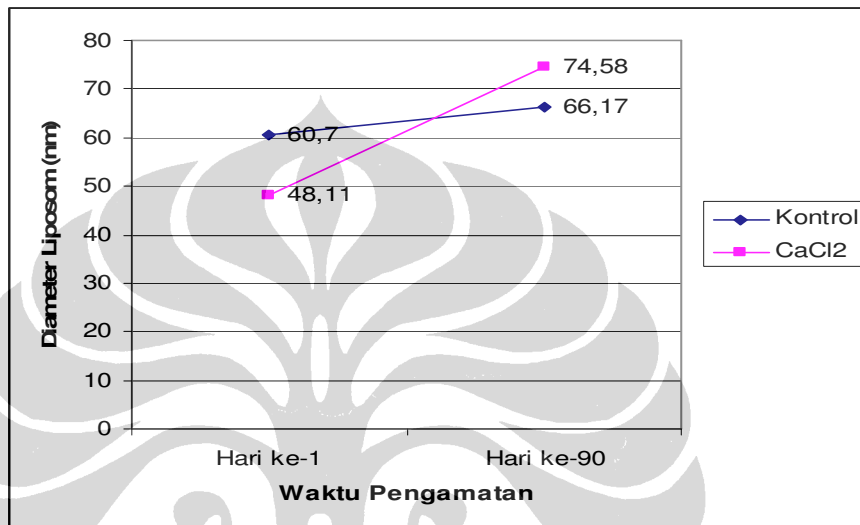
n = ukuran diameter liposom dalam piksel

Setiap liposom diukur dua kali dengan posisi garis ukur yang berbeda, yang saling tegak lurus. Hasil pengukuran dalam satuan piksel dikonversi menjadi satuan nanometer. Hasil pengukuran liposom tiap foto (Lampiran 2) dirata-rata sehingga didapat enam data untuk setiap kelompok perlakuan, seperti diperlihatkan pada Tabel 1-1.

Tabel 1-1. Hasil Pengukuran Diameter Liposom EPC-TEL 2,5 pada Berbagai Kelompok Perlakuan dengan Program *Image pro Express*

Foto ke-	Diameter Liposom Kontrol (nm)		Diameter Liposom dalam Larutan CaCl ₂ 150 mOsmol pH 5 (nm)	
	Hari ke-1	Hari ke-90	Hari ke-1	Hari ke-90
1	64,1750	63,1214	55,2821	78,8250
2	61,6086	63,1679	51,6350	76,1221
3	59,9679	62,8564	49,7700	72,6157
4	61,0821	71,9732	55,2729	69,2457
5	55,2393	68,2679	39,4100	68,6307
6	62,1200	67,6586	37,2750	82,0190
Rata-rata	60,7	66,17	48,11	74,58

Data dari setiap kelompok perlakuan dihitung rata-ratanya dan dengan pembulatan hingga dua desimal di belakang koma didapatkan hasil sebagai berikut: diameter kelompok liposom kontrol hari ke-1 adalah 60,7 nm, diameter kelompok liposom kontrol hari ke-90 adalah 66,17 nm, diameter kelompok liposom terpapar larutan CaCl_2 hari ke-1 adalah 48,11 nm, dan diameter kelompok liposom terpapar larutan CaCl_2 hari ke-90 adalah 74,58 nm. Data ini ditampilkan kembali pada Grafik 1-1.



Grafik 1-1. Diameter liposom empat kelompok perlakuan (kontrol hari ke-1 dan 90, terpapar CaCl_2 hari ke-1 dan 90).

Analisis data dilakukan dengan program SPSS versi 11,5. Normalitas distribusi data setiap kelompok perlakuan diuji menggunakan Shapiro-Wilk karena sampel penelitian kurang dari lima puluh. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa data pada semua kelompok perlakuan terdistribusi normal (Lampiran 3). Untuk dapat menggunakan uji parametrik pada hipotesis komparatif lebih dari dua kelompok tidak berpasangan, selain skala pengukuran harus numerik dan distribusi data normal, varians data harus sama. Penilaian varians dilakukan dengan *Levene's test*. Berdasarkan *Levene's test*, $p = 0,025$, yang berarti varians data tidak sama (Lampiran 4) sehingga dilakukan transformasi data untuk menyamakan varians. Bentuk transformasi data yang dipilih adalah kuadrat. Setelah transformasi data, varians data diuji kembali dan didapatkan $p = 0,085$, yang berarti varians data tidak berbeda bermakna (Lampiran 5).

Data pada penelitian ini memenuhi syarat untuk uji parametrik sehingga uji hipotesis menggunakan *One Way Anova* pada batas kemaknaan $p = 0,05$. Pada uji Anova, diperoleh $p = 0,001$ yang artinya terdapat perbedaan diameter yang bermakna pada setidaknya dua kelompok perlakuan. Untuk mengetahui kelompok data mana yang berbeda bermakna, dilakukan analisis *Post Hoc* (Lampiran 5). Dengan batas kemaknaan $p = 0,05$, disimpulkan bahwa terdapat perbedaan diameter yang bermakna antara:

1. Kelompok liposom terpapar CaCl_2 hari ke-1 dengan kelompok liposom terpapar CaCl_2 hari ke-90.
2. Kelompok liposom kontrol hari ke-1 dengan kelompok liposom terpapar CaCl_2 hari ke-1.
3. Kelompok liposom kontrol hari ke-90 dengan kelompok liposom terpapar CaCl_2 hari ke-90.

Sementara itu, tidak terdapat perbedaan diameter yang bermakna antara kelompok liposom kontrol hari ke-1 dengan kelompok liposom kontrol hari ke-90.

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini, terdapat empat kelompok liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi, yaitu liposom kontrol hari pertama, liposom kontrol hari ke-90, liposom dalam larutan CaCl_2 150 mOsmol pH 5 hari pertama, dan liposom dalam larutan CaCl_2 150 mOsmol pH 5 hari ke-90. Keempat kelompok liposom ini sama-sama disimpan pada suhu 4°C . Penelitian ini membandingkan diameter keempat kelompok liposom.

Berdasarkan hasil penelitian, tidak terdapat perbedaan bermakna antara diameter liposom kontrol pada hari pertama dengan hari ke-90. Ini menunjukkan bahwa tidak terdapat penambahan atau pengurangan diameter liposom setelah penyimpanan selama 90 hari pada suhu 4°C . Karena itu, dapat dikatakan bahwa waktu penyimpanan dan suhu 4°C tidak mempengaruhi perubahan diameter liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi.

Diameter liposom merupakan salah satu parameter stabilitas liposom, namun bukan satu-satunya parameter. Karena itu, dari penelitian ini belum dapat disimpulkan bahwa liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi stabil pada penyimpanan suhu 4°C selama 90 hari. Untuk menguji stabilitas liposom, masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap parameter stabilitas yang lain, seperti komposisi liposom.

Freisleben HJ⁴⁹ telah melakukan penelitian mengenai stabilitas liposom menggunakan TEL dari *Thermoplasma acidophilum*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa liposom ini cukup stabil. Pada penelitian tersebut, TEL yang digunakan adalah TEL murni dengan perbandingan TEL-EPC yang cukup tinggi, sementara penelitian ini hanya menggunakan TEL dengan perbandingan 2,5 mol% terhadap EPC.

Liposom EPC-TEL 2,5 merupakan liposom formulasi baru yang tersusun atas fosfatidil kolin kuning telur (*Egg-yolk Phosphatidyl Choline / EPC*) dan Tetraeter Lipid 2,5 mol% *Thermoplasma acidophilum*.¹⁷ *Egg-yolk Phosphatidyl Choline* adalah bahan yang biasa digunakan untuk membuat liposom selama ini karena relatif lebih murah daripada fosfolipid lain.¹¹ Liposom yang hanya terdiri atas EPC, yang merupakan lipid ester, sangat rentan terhadap degradasi oksidatif karena terdapat ikatan rangkap pada ester. Asam lemak pada fosfatidilkolin juga mengandung ikatan rangkap sehingga meningkatkan kecenderungan terjadinya oksidasi. Degradasi oksidatif menyebabkan liposom yang disimpan dalam suspensi cairan dapat beragregasi.

Penambahan tetraeter lipid (TEL) pada liposom dimaksudkan untuk menstabilkan liposom, seperti telah terbukti pada penelitian yang dilakukan oleh Purwaningsih, dkk.²¹ Tetraeter lipid merupakan eter gliserol dan tersusun atas rangka lipid tanpa ikatan rangkap sehingga lebih resisten terhadap oksidasi. Strukturnya yang berupa dua gugus kepala polar juga memungkinkannya berinkorporasi dengan membran liposom EPC yang menyerupai pasak.²³

Sonikasi terhadap liposom EPC-TEL 2,5 pada penelitian ini juga dapat mempengaruhi stabilitas liposom kontrol. Sonikasi akan menghasilkan liposom berukuran 10-50 nm (SUV). Dengan ukuran yang lebih kecil ini, kemungkinan interaksi antar membran liposom juga lebih kecil sehingga liposom tidak mudah menggumpal dan stabilitasnya lebih tinggi.

Penelitian ini juga mempelajari pengaruh larutan CaCl_2 150 mOsmol pH 5 terhadap liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi dengan membandingkan diameter liposom yang disimpan dalam larutan CaCl_2 pada hari pertama dengan hari ke-90. Berdasarkan analisis statistik yang telah dilakukan, terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok liposom yang terpapar CaCl_2 tersebut. Diameter liposom kontrol hari pertama tidak berbeda bermakna dibandingkan hari ke-90, maka dapat disimpulkan bahwa perubahan diameter liposom tersebut dipengaruhi oleh paparan larutan CaCl_2 150 mOsmol pH 5.

Pengaruh larutan CaCl_2 ini terhadap perubahan diameter liposom bahkan terjadi sejak hari pertama paparan. Hal ini ditunjukkan oleh terdapatnya perbedaan bermakna antara diameter liposom kontrol hari pertama dengan diameter liposom yang terpapar larutan CaCl_2 hari pertama.

Penelitian mengenai pengaruh CaCl_2 terhadap liposom EPC-TEL 2,5 belum pernah dilakukan, kecuali oleh Purwaningsih, dkk²¹ yang menyimpulkan bahwa liposom EPC-TEL 2,5 tetap stabil pada penyimpanan dalam larutan CaCl_2 hingga akhir bulan II, pada pH 5 dan 7. Namun, penelitian tersebut menggunakan CaCl_2 350 mOsmol, sementara pada penelitian ini digunakan larutan CaCl_2 150 mOsmol.

Untuk aplikasi di bidang kedokteran, digunakan liposom berukuran 80-200 nm sementara liposom yang dipaparkan larutan CaCl_2 pada penelitian ini awalnya memiliki diameter rata-rata 48 nm dan menjadi 74 nm pada hari ke-90. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun perbedaan diameter rata-rata liposom terpapar

CaCl_2 antara hari pertama dengan hari ke-90 bermakna secara statistik, namun perbedaan ini tidak bermakna secara klinis.

Penelitian lain yang berhubungan adalah yang dilakukan oleh Sabín J⁵⁰ et al menggunakan liposom yang terbuat dari fosfatidilkolin. Pada penelitian ini, disimpulkan bahwa Ca^{2+} menyebabkan fusi liposom fosfatidilkolin.

