

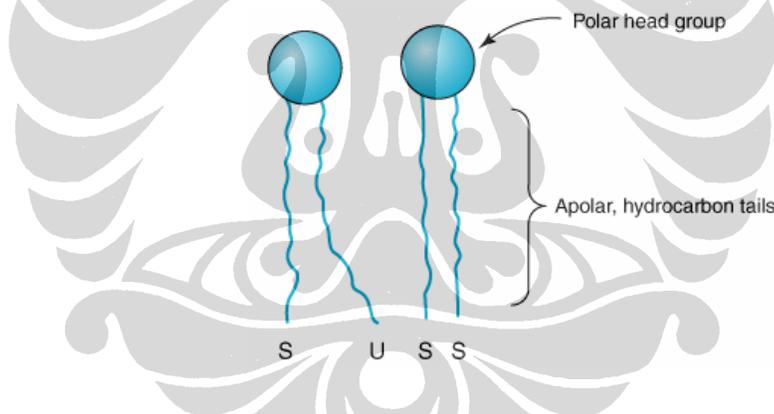
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Liposom

2.1.1 Komponen Penyusun Liposom

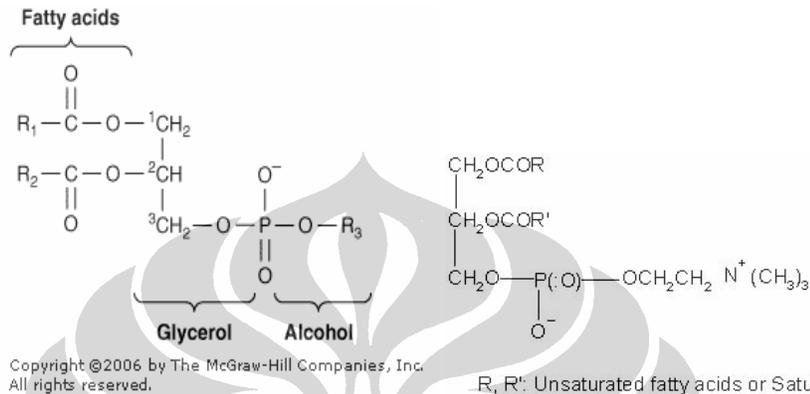
Liposom merupakan suatu vesikel yang tersusun atas inti air yang diselubungi membran berupa molekul lipid, biasanya fosfolipid. Liposom terbentuk secara spontan jika lipid didispersikan dalam medium cair, menghasilkan ukuran yang bervariasi mulai dari puluhan nanometer hingga puluhan mikrometer.¹¹ Alec Bangham dari Cambridge, yang menemukan struktur dan kegunaan liposom pada tahun 1961,¹⁴ mendapati bahwa fosfolipid yang didispersikan dalam air akan membentuk vesikel dwilapis lipid karena bagian kepala molekul fosfolipid bersifat hidrofilik sementara bagian ekornya hidrofobik.¹² Struktur fosfolipid diperlihatkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Gambaran skematik fosfolipid atau lipid membran lain. Bagian kepala merupakan gliserol yang hidrofilik, sementara bagian ekor tersusun atas hidrokarbon yang hidrofobik. Bagian ekor dapat berupa asam lemak jenuh (S = *saturated*) atau asam lemak tak jenuh (U= *unsaturated*).¹³

Fosfolipid biasanya digunakan sebagai komponen utama liposom karena dapat membentuk lapis ganda yang menyerupai membran biologis.¹⁴ Fosfolipid merupakan komponen struktural membran biologis yang tersusun atas asam lemak, alkohol, dan residu asam fosfat. Alkohol pada fosfolipid dapat berupa gliserol atau sfingosin.¹³ Berdasarkan gugus alkohol yang terikat pada fosfat, terdapat beberapa jenis fosfolipid.²⁶ Fosfolipid yang terutama terdapat pada

membran sel adalah fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, dan fosfatidilinositol. Gambaran struktur fosfolipid diperlihatkan pada Gambar 2.3. Selain fosfolipid, lipid lain juga dapat ditemukan pada membran sel, yaitu sfingomielin, kardiolipin, dan kolesterol.^{11, 14, 27, 28}



Gambar 2.2 Kiri: Struktur molekul fosfolipid yang tersusun atas asam lemak (R1 dan R2), gliserol, dan komponen alkohol terfosforilasi. Kanan: Struktur molekul fosfatidilkolin.¹³

Fosfolipid yang banyak digunakan pada pembuatan liposom konvensional adalah fosfatidilkolin (lesitin). Fosfatidilkolin berasal dari kuning telur (*Egg-yolk Phosphatidyl Choline/EPC*), jaringan otak, kedelai, atau yang dibuat secara sintetik. Lipid bermuatan negatif seperti fosfatidilserin atau fosfatidilgliserol sering ditambahkan sebagai stabilisator. Kolesterol juga dapat memperbaiki stabilitas mekanis dan menurunkan kebocoran senyawa aktif melalui membran.¹⁴ Stabilisator liposom lain yang masih dikembangkan sampai saat ini adalah tetraeter lipid (TEL) dari membran *Archaea*, antara lain *Thermoplasma acidophilum*, *Sulfolobus acidocaldarius*,²¹ dan *Archaeoglobus fulgidus*.²⁹

2.1.2 Ukuran dan Proses Pembentukan Liposom

Liposom dapat diklasifikasikan berdasarkan ukuran dan jumlah lapisan membrannya, yaitu:

- Small Unilamellar Vesicles* (SUV): liposom berukuran 20 nm - 100 nm dan terdiri dari satu dwilapis lipid.

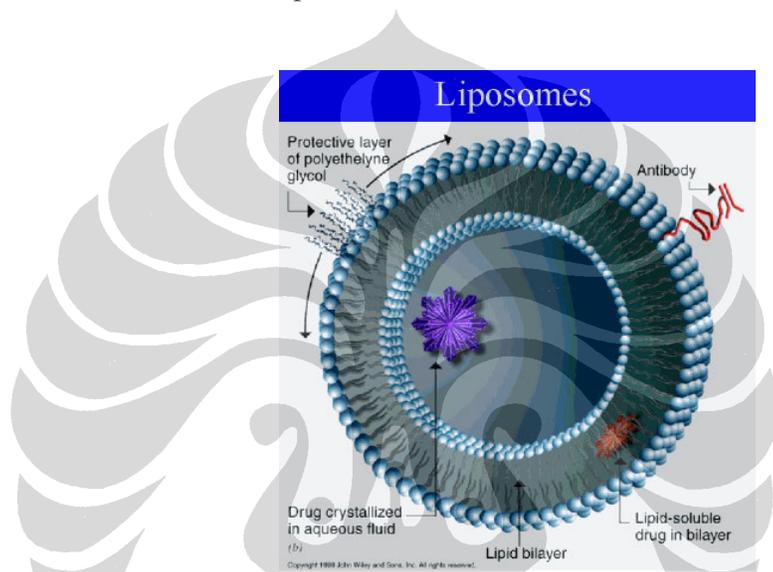
- b. *Large Unilamellar Vesicles* (LUV): liposom berukuran >100 nm dan terdiri dari satu dwilapis lipid.
- c. *Multilamellar Vesicles* (MLV): liposom berukuran >0,5 μm dan terdiri dari lima sampai 20 dwilapis lipid.
- d. *Oligolamellar Vesicles* (OLV): liposom berukuran 0,1-1 μm dan terdiri dari sekitar lima dwilapis lipid.
- e. *Multivesicular Vesicles* (MMV): liposom berukuran ≥ 1000 nm dengan struktur multikompartemental.³⁰

Jumlah lapisan membran dan diameter liposom ditentukan oleh cara pembuatan dan komposisi lipidnya. Contohnya, liposom yang tersusun atas EPC dan kolesterol akan memiliki diameter lebih besar (100-200 nm) daripada liposom yang hanya tersusun atas EPC (<100 nm).³¹ Liposom yang dibuat dengan cara *han-shaken* akan berbentuk multilamellar dan berukuran besar (LMV). Ukuran liposom dapat diperkecil menjadi SUV dengan cara ekstrusi melalui membran polikarbonat 100 nm atau dengan sonikasi menggunakan probe atau sonikasi dalam air. Dialisis terhadap *mixed-micelles* dengan deterjen, perubahan pH, dan penambahan kalsium akan menghasilkan LUV yang dapat diubah menjadi SUV dengan sonikasi.³²

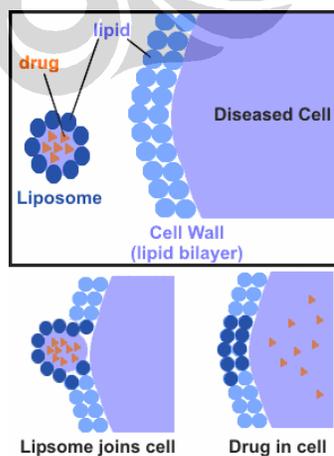
2.1.3 Aplikasi Medis Liposom

Liposom memiliki sifat-sifat seperti membran sel alamiah dan juga didegradasi dalam tubuh seperti layaknya membran sel sehingga liposom aman untuk aplikasi medis. Jika liposom diinjeksikan ke dalam darah, molekul ini diserap dan kandungan lipidnya dicerna oleh sel pada sistem retikuloendotelial. Hal ini mendorong penggunaan liposom sebagai pembawa obat tertentu agar pengaruh obat terpusat pada jaringan ini.¹² Liposom dapat digunakan sebagai pembawa berbagai molekul seperti molekul obat, protein, nukleotida, dan plasmid. Liposom sangat multifungsi dan tergantung dari komposisinya dapat diaplikasikan untuk berbagai tujuan.³³

Liposom sebagai pembawa obat (*drug-carrier*) telah dipatenkan di Jerman pada tahun 1943 berupa campuran cair antara lesitin dan kolesterol. 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. Gambar liposom sebagai pembawa obat dapat dilihat pada Gambar 2.3. dan 2.4. Molekul obat dapat larut dalam air, terionisasi atau membentuk kompleks hidrofob dengan 5 nukleat atau makromolekul lain tanpa berikatan secara fisik.³⁴



Gambar 2.3 Liposom sebagai pembawa obat. Obat yang larut air akan terlarut dalam inti liposom sementara obat yang larut lemak akan terikat dengan membran liposom, terinterkalasi di antara dwilapis lipid, atau terlarut dalam dwilapis lipid.³⁵



Gambar 2.4 Integrasi liposom dengan sel sasaran.³⁶

Penggunaan liposom sebagai pembawa obat telah banyak dimanfaatkan dan mengandung antibiotika, fungisid, vaksin, atau obat antiinflamasi. Dalam banyak penelitian liposom digunakan sebagai pembawa obat karena 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 akan dapat pula ditekan serendah mungkin. Salah satu contohnya adalah metilprednisolon palmitat,³⁴ *doxorubicin*,³⁷ amfoterisin B.³⁸

Liposom dapat membawa obat ke target tertentu. Misalnya, *long-circulating liposomes* merupakan liposom dengan target selektif pada area patologis tertentu dalam tubuh. Liposom juga dapat meningkatkan efektivitas obat dengan melepaskannya secara perlahan-lahan.³⁹ Efektivitas obat juga meningkat karena liposom dapat melindungi obat dari degradasi metabolik oleh enzim metabolisme. Dengan demikian, dosis dan frekuensi pemberian obat dapat diturunkan sehingga secara tidak langsung efek samping obat juga berkurang. Efek samping juga berkurang karena komponen tubuh tidak langsung terpapar dosis penuh obat yang digunakan. Aplikasi lainnya, liposom dapat melarutkan obat lipofilik yang sulit diberikan intravena sehingga lebih mudah diberikan.⁴⁰

Untuk aplikasi di bidang kedokteran, digunakan liposom berukuran 80-200 nm dan harus memenuhi persyaratan yang meliputi: konsentrasi lipid dan obat, distribusi ukuran liposom, pH, osmolaritas, konduktivitas, adanya kemungkinan produk hasil degradasi, endotoksin dan parameter-parameter lainnya.³¹ Persyaratan penggunaan liposom sebagai pembawa obat adalah stabilitas, baik fisik, kimia, maupun biologi dan jumlah lapisan membran lipid per liposom. Liposom yang stabil secara fisik, kimia, dan biologi akan dapat membawa obat dengan lebih baik ke organ target.^{14, 15}

2.1.4 Stabilitas Liposom

Stabilitas liposom didefinisikan sebagai kemampuan membran liposom mempertahankan integritas strukturalnya dan untuk mempertahankan obat yang dibawanya. Stabilitas liposom meliputi stabilitas kimia material komponennya

(lipid dan obat) serta stabilitas fisik, yaitu integritas materi yang dibawa dan ukuran liposom. Sebagai tambahan, liposom juga harus mempertahankan integritasnya dalam tubuh sampai obat yang dibawa mencapai sel sasaran.⁴¹

Integritas liposom dapat terganggu oleh degradasi lipid (oksidasi lemak tak jenuh, hidrolisis, dan fusi vesikel). Liposom hasil sonikasi yang disimpan di bawah temperatur transisi cenderung beragregasi dan berfusi, yang dapat dilihat sebagai penambahan diameter liposom. Stabilitas liposom dipengaruhi pH, suhu, cahaya, oksigen, dan ion metal berat yang dapat menimbulkan reaksi fisik maupun kimia. Faktor-faktor ini dapat dihilangkan jika liposom disimpan pada keadaan steril dan pada suhu yang rendah.⁴¹

Komposisi liposom sangat mempengaruhi stabilitas liposom. Contohnya, fosfolipid tak jenuh seperti fosfatidilkolin yang berasal dari kuning telur atau kacang kedelai akan membentuk struktur yang permeabel tetapi kurang stabil. Fosfolipid jenuh seperti dipalmitoil-fosfatidilkolin membentuk struktur yang stabil namun impermeabel.⁴²

Berbagai percobaan dan penelitian terus dilakukan untuk mendapatkan komposisi liposom yang tepat. Salah satu jenis substansi yang sedang dikembangkan adalah derivat tetraeter lipid (TEL), seperti yang terdapat dalam *Archaea*. Liposom yang mengandung TEL menunjukkan perbaikan dan dapat menutupi kekurangan liposom konvensional. Namun, tidak semua turunan TEL yang telah ditemukan sesuai untuk membentuk liposom.¹⁷

2.1.5 Pengukuran Liposom

Metode pengukuran liposom antara lain adalah berdasarkan *quasi-elastic laser light scattering* dan observasi langsung liposom dengan menggunakan mikroskop elektron. Yang paling akurat adalah dengan mikroskop elektron karena dapat mengamati liposom satu per satu secara langsung. Namun, cara ini membutuhkan waktu lama, prosesnya sulit, dan peralatan yang diperlukan mahal. Sementara itu, *laser light scattering* sangat sederhana dan cepat dilakukan, namun hanya dapat menentukan diameter rata-rata dari sekelompok liposom.¹⁵

Pengukuran menggunakan mikroskop elektron dapat dilakukan secara manual maupun dengan bantuan komputer. Penggunaan komputer dapat mempercepat pengumpulan data dan meningkatkan akurasi pengukuran secara signifikan daripada cara manual. Salah satu program komputer yang dapat digunakan adalah *Image Pro Express*. Program ini merupakan perangkat lunak analisis citra untuk pencitraan fluoresens, pencitraan material dan berbagai aplikasi ilmiah, medis dan industrial lainnya. Kelebihan program ini antara lain adalah kemampuan menganalisis data dengan menggunakan *scattergram*, *histogram*, dan *line profiles*.⁴³

2.2 Tetraeter Lipid

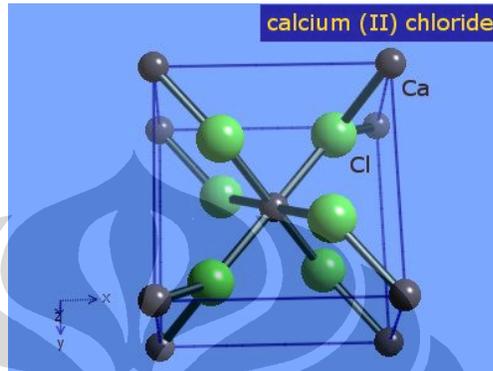
Tetraeter lipid merupakan salah satu jenis lipid yang terdapat dalam membran Archaea, seperti *Thermoplasma acidophilum*, *Sulfolobus acidocaldarius*,²¹ dan *Archaeoglobus fulgidus*.²⁹ TEL dari *Thermoplasma acidophilum* telah teruji tidak toksik dan tidak bersifat mutagenik dan antimutagenik, secara *in vitro* dan *in vivo*.^{44, 45}

Fosfolipid dari membran *Thermoplasma acidophilum* berupa eter-gliserol yang membentuk lapisan lipid monolayer, berbeda dengan fosfolipid dari membran sel lain yang berupa ester gliserol yang membentuk lapisan bilayer. Ikatan eter-gliserol sangat resisten terhadap hidrolisis pada pH rendah sehingga memberi keuntungan dibanding ikatan ester. Tidak adanya ikatan rangkap dalam TEL meningkatkan resistensi terhadap oksidasi, sedangkan adanya gugus metil samping akan menambah efek fluiditas. Jadi, TEL bersifat stabil dengan ikatan yang cukup erat.²³

Uji stabilitas liposom yang mengandung TEL *Thermoplasma acidophilum* menunjukkan bahwa TEL ini cukup stabil pada pH rendah daripada pH netral atau alkalis. Kombinasi TEL dengan fosfatidilkolin yang berasal dari kuning telur juga menunjukkan stabilitas yang cukup tinggi dengan pengukuran menggunakan *particle sizer*.²³

2.3 Kalsium Klorida

Kalsium klorida (CaCl_2) merupakan senyawa ionik dari kalsium dan klorin. Senyawa ini dapat dihasilkan dari batu kapur secara langsung maupun melalui *Solvay process*.⁴⁶ Struktur kalsium klorida dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur Kalsium Klorida⁴⁷

Dalam tubuh, kalsium mempunyai beberapa fungsi. Kalsium merupakan komponen utama penyusun tulang. Selain itu, kalsium berperan penting dalam komunikasi sel. Kalsium memediasi konstiksi dan relaksasi pembuluh darah, transmisi impuls saraf, kontraksi otot, serta sekresi hormon seperti insulin. Sel-sel yang dapat tereksitasi seperti otot rangka dan sel saraf mengandung kanal kalsium *voltage-dependent* pada membrannya. Kalsium juga diperlukan untuk menstabilisasi sejumlah protein dan enzim agar dapat mengoptimalkan aktivitas mereka. Sebagai contoh, pengikatan dengan ion kalsium diperlukan untuk mengaktifasi tujuh faktor pembekuan bergantung vitamin K pada kaskade koagulasi.⁴⁸

Kalsium klorida juga bermanfaat untuk pengobatan berbagai penyakit. Kalsium klorida dapat diberikan secara intravena untuk terapi hipokalsemia dan hiperkalemia, untuk pengobatan reaksi hipersensitivitas, intoksikasi magnesium, dan meningkatkan kontraksi miokardium jika tidak berhasil dengan epinefrin. Kalsium dapat juga digunakan untuk mengatasi intoksikasi *Calcium Channel Blocker* dan efek samping obat seperti diltiazem.²⁵

2.4 Kerangka Konsep

