

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Liposom

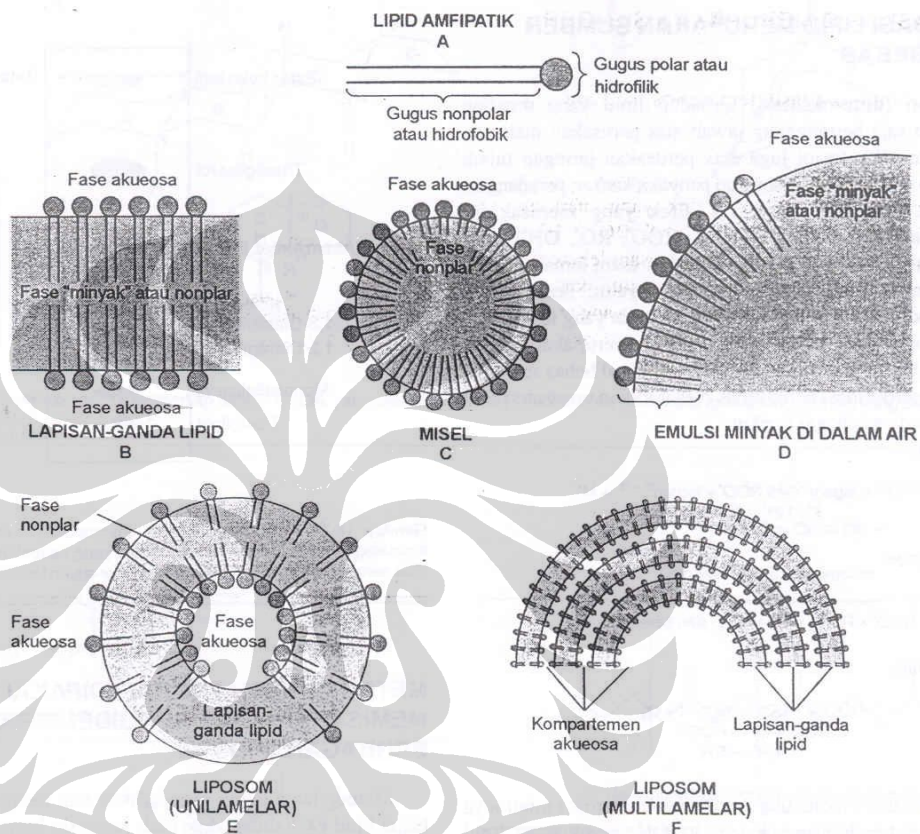
Ada banyak *drug carrier* yang digunakan untuk membawa obat ke daerah sasaran yang dituju, misalnya protein serum, imunoglobulin, polimer sintesis, liposom, niosom, antibodi monoklonal, dan lain sebagainya. Di antara *carrier* ini liposom menunjukkan potensi yang besar sebagai pembawa obat ke tempat yang dituju dan mengatur pengeluaran obat dengan laju yang sudah ditetapkan sebelumnya. Berbagai usaha telah dilakukan untuk menciptakan spesifitas *drug carrier* terhadap organ target, sel atau struktur di dalam sel. Liposom merupakan *drug carrier* yang dapat dengan mudah diarahkan ke suatu organ target karena permukaannya lebih mudah dimodifikasi dibandingkan *drug carrier* lainnya¹³. Sebagai contoh, suatu ligan apo E (glikoprotein apolipoprotein E) yang memiliki afinitas tinggi terhadap reseptor LDL dapat digabungkan pada permukaan liposom untuk mencapai sasaran sel tumor yang mengekspresikan reseptor LDL¹⁴.

Secara luas, liposom diartikan sebagai dwilapis lipid yang melingkupi rongga cairan¹⁵. Liposom terbentuk secara spontan ketika lipid ditempatkan pada media cair. Sejumlah vesikel akan terbentuk dengan diameter yang bervariasi dari puluhan nanometer hingga puluhan mikrometer. Liposom dapat dirancang sehingga sejumlah zat atau materi dapat disisipkan di membrannya atau di bagian rongga cairannya¹⁶.

2.1.1. Unsur pokok kimiawi

Membran sel merupakan struktur kompleks yang tersusun dari lipid, protein dan karbohidrat. Unsur lipid pada membran sel mengandung baik regio hidrofobik (lipofilik) maupun regio hidrofilik, sehingga disebut bersifat amfipatik. Unsur-unsur lipid pada membran yang menentukan sifat amfipatik ini terletak pada gugus kepala yang polar dan gugus ekor yang nonpolar. Gugus kepala (polar) memiliki sifat hidrofilik yaitu mudah berinteraksi dengan air, sedangkan gugus ekor (nonpolar) memiliki sifat hidrofobik yaitu tidak larut dalam air tetapi

larut dalam lemak (lipofilik). Di dalam pelarut seperti air, lipid amfipatik (fosfolipid misalnya) akan menyusun dirinya sendiri ke dalam suatu bentuk misel atau liposom untuk memenuhi kedua regio secara termodinamika, seperti pada Gambar 1. Pada struktur liposom regio hidrofobik akan dilindungi dari air sedangkan regio hidrofilik akan terendam dalam lingkungan berair¹⁷.



Gambar 1: Pembentukan membran lipid, misel, emulsi, dan liposom dari lipid amfipatik seperti fosfolipid¹⁷

Komponen struktural utama suatu membran biologi adalah fosfolipid. Fosfolipid merupakan kelompok lipid yang selain mengandung asam lemak dan alkohol juga mengandung residu asam fosfat. Fosfolipid sering memiliki basa yang mengandung nitrogen dan substituen lain. Gliserofosfolipid, misalnya, memiliki alkohol berupa gliserol, sedangkan alkohol pada sfingofosfolipid merupakan sfingosin. Fosfolipid yang paling umum adalah molekul fosfatidilkolin (disebut juga lesitin), suatu molekul amfipatik yang tidak larut dalam air. Lesitin dapat diperoleh dari alam maupun dari bahan sintesis. Ekstraksi dapat dilakukan

dari *egg yolk* dan *soya bean*. Karena lesitin adalah komponen fosfolipid utama berbagai membran sel, lesitin sering digunakan sebagai fosfolipid utama pada pembuatan liposom. Pada suhu yang berbeda membran lesitin akan mengalami perubahan dari suatu fase ke fase yang lain. Pada suhu yang tinggi membran lesitin akan berubah dari fase padat atau *gel* menjadi fase kristal-cair.

Membran liposom bersifat *semipermeable* sehingga laju difusi tiap molekul dan ion yang melewati membran akan bervariasi. Molekul yang memiliki kelarutan yang tinggi terhadap media cair dan organik akan dapat melewati membran dengan mudah, sedangkan larutan polar seperti glukosa dan zat lain yang memiliki berat molekul besar dapat melewati membran dengan lambat. Demikian juga molekul kecil dengan muatan netral (misalnya air dan urea) akan dapat melewati membran dengan cepat¹⁶.

2.1.2. Struktur Fisik

Ada beberapa hal yang menentukan diameter atau ukuran liposom, antara lain: 1) Jenis lipid yang digunakan dan kombinasinya. Misalnya, liposom yang dibuat dari campuran EPC (*Egg yolk Phosphatidylcholine*) dan kolesterol memiliki diameter yang lebih besar (sekitar 100-200 nm), sedangkan liposom yang dibuat dari EPC saja berdiameter kurang dari 100 nm. 2) Keseimbangan antara energi untuk membuka membran liposom, elastisitas kelengkungan liposom dan jumlah energi yang tersebar. 3) Cara pembuatan. Liposom memiliki ukuran yang bervariasi antara 20 nm hingga 100 μm dengan ketebalan dwilapis lipid sekitar 4 nm. Dalam bidang kedokteran digunakan liposom yang berukuran 80-200 nm serta harus memenuhi ketentuan persyaratan yang meliputi konsentrasi lipid dan obat, distribusi ukuran liposom, pH, dan parameter-parameter lainnya¹⁸.

Liposom memiliki struktur dwilapis yang konsentris, terbuat dari fosfolipid amfipatik. Tergantung pada jumlah dwilapis, liposom dibagi menjadi *multilamellar vesicle* (MLV), *small unilamellar vesicle* (SUV) dan *large unilamellar vesicle* (LUV), dengan diameter bervariasi dari 0,025 μm – 10 μm ¹⁵.

Multilamellar vesicles (MLV) terdiri dari beberapa (hingga 14) lapisan lipid (dengan susunan lamela konsentris seperti bawang), dipisahkan satu dengan lainnya oleh suatu lapisan cair. Diameter liposom ini berukuran beberapa ratus

nanometer lebih (100-1000 nm). *Small unilamellar vesicles* (SUV) dilingkupi oleh selapis lipid dan diameternya berukuran 25-50 nm. *Large unilamellar vesicles* (LUV) merupakan kelompok vesikel yang sangat heterogen seperti SUV dilingkupi oleh selapis lipid. Diameternya sangat bervariasi dari 100 nm hingga seukuran sel¹⁵.

Ukuran liposom ditentukan oleh cara pembuatannya. Liposom yang dibuat dengan cara *hand-shaken* akan menghasilkan liposom yang berbentuk multilamellar dan berukuran besar. Untuk memperoleh ukuran liposom yang lebih kecil (SUV) dapat dilakukan metode ekstrusi melalui membran polikarbonat 100 nm atau dengan cara sonikasi menggunakan *probe sonication* dan *bath sonication*¹⁹⁻²⁰.

2.2 Tetra Eter Lipid (TEL)

Tetra eter lipid (TEL) yang digunakan untuk menstabilkan liposom lesitin dapat diperoleh dari fosfolipid utama membran *Archae* yang bersifat thermoasidofilik¹¹. Salah satu spesiesnya adalah *Thermoplasma acidophilum* yang ditemukan secara tidak sengaja di tambang batu bara Indiana, USA. *Thermoplasma acidophilum* (*Th. acidophilum*) ini juga berhasil diisolasi dari mata air panas di Jepang²¹.

Th. acidophilum tumbuh secara optimal pada suhu 59°C dengan pH 1-2⁵. Walaupun tidak memiliki dinding sel tetapi ia sangat resisten terhadap pH asam²¹. Dari sejumlah proses adaptasi yang dilakukannya untuk bertahan di lingkungan ekstrim, salah satunya adalah membran selnya yang khas²¹. Membran *Th. acidophilum* terdiri dari tiga fraksi utama: lipid apolar, glikolipid dan glikofosfolipid. Struktur dasar lipid ini adalah *diglycerol-tetraether macrocycle* yang meliputi seluruh membran dan terdiri dari dua rantai C₄₀ isoprenoid⁶.

Lipid yang membentuk membran *Archae* ini berbeda dari fosfolipid dwilapis yang terdapat pada sel-sel lain. Lipid *Archae* ini bukan merupakan gliserol ester tetapi eter. Ikatan eter ini menguntungkan karena membuatnya lebih stabil pada rentang pH yang ekstrim. Selain itu, ketiadaan ikatan ganda meningkatkan daya tahan lipid terhadap oksidasi²². Dengan demikian lipid

membran *Th. acidophilum* sangat resisten terhadap suhu, pH asam, proses oksidasi dan serangan mekanik sehingga membentuk liposom yang stabil²³.

Formula kimia tetra eter fosfolipid utama (TEL) *Th. acidophilum* dirumuskan oleh Strobl dkk²⁴ sebagai 2,3,2',3'-tetra-O-dibiphytanyl-di-*sn*-glycerol-1'-glycosyl-1-phosphoryl-3'-*sn*-glycerol. Berat molekulnya adalah 1638 Da¹².

Percobaan yang dilakukan terhadap berbagai tipe sel seperti limfoma tikus, hamster V79, EMAT dan sel *S. typhimurium* membuktikan bahwa TEL yang membentuk liposom satu lapis yang bermuatan negatif bersifat tidak sitotoksik dan tidak mutagenik dan tidak menimbulkan aktivitas antimutagenik⁷. Selain itu, liposom TEL terbukti tidak menyebabkan toksisitas sistem saraf pusat akut pada tikus hingga dosis 324 mg/kgBB. Deposisi lipid pada organ-organ yang spesifik juga tidak ditemukan²³.

Ukuran partikel liposom TEL, terutama dari *Th. acidophilum*, sangat bervariasi bergantung pada cara pembuatannya. Dengan menggunakan *French Pressure Cell* ukuran liposom hanya berkisar antara 120 nm, sedangkan yang dibuat dengan cara pengocokan menggunakan tangan (*hand shaken*) ukuran liposom sangat besar hingga mencapai 7500 nm. Liposom hasil pengocokan dengan tangan dapat diperkecil dengan cara: a) sonifikasi, menghasilkan liposom berukuran sekitar 600 nm, b) dialisis dengan detergen, membentuk liposom berukuran sebesar 370-450 nm, dan c) ekstrusi melalui membran polikarbonat berpori 200 nm, sehingga ukuran liposom akan menjadi sekitar 220 nm.

Campuran antara TEL dengan lesitin kuning telur dan lesitin kedelai akan menstabilkan liposom lesitin. Secara konvensional, *phosphatidic acid* digunakan sebagai tambahan sebanyak 2,5 % untuk menstabilkan liposom lesitin dengan memberikan muatan negatif. TEL menambah muatan negatif liposom lesitin (seperti efek *phosphatidic acid*) dan menghubungkan secara kovalen kedua permukaan kutub membran dwilapis liposom. Dengan demikian, TEL bersifat sebagai stabilisator dwilapis lesitin baik secara elektrostatik maupun struktural. Stabilisasi secara struktural juga diberikan oleh kolesterol dan α -tokoferol¹².

Liposom lesitin telur stabil selama satu hingga beberapa minggu pada *refrigerator* (4-8°C), pada suhu yang lebih tinggi hanya beberapa hari. Liposom

campuran TEL dan lesitin telur dengan perbandingan mol 25:75 dan 50:50 stabil pada *refrigerator* hingga 622 hari¹².

2.3. Kerangka Konsep

