

UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM OLEAT TERHADAP
SENSITIVITAS LIPOSOM PADA BERBAGAI KONDISI pH DAN
PENJERAPAN SPIRAMISIN OLEH LIPOSOM**

SKRIPSI

**HANIFAH RAMADHANI
0706264690**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM OLEAT TERHADAP
SENSITIVITAS LIPOSOM PADA BERBAGAI KONDISI pH DAN
PENJERAPAN SPIRAMISIN OLEH LIPOSOM**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi**

**HANIFAH RAMADHANI
0706264690**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Hanifah Ramadhani

NPM : 0706264690

Tanda Tangan : 


Tanggal : 15 Juli 2011

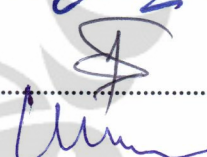
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Hanifah Ramadhani
NPM : 0706264690
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Asam Oleat Terhadap
Sensitivitas Liposom pada Berbagai Kondisi pH dan
Penjerapan Spiramisin Oleh Liposom


Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Iskandarsyah, M.S., Apt. (.....) 

Penguji I : Sutriyo, M.Si., Apt. (.....) 

Penguji II : Drs. Umar Mansur, M.Sc. (.....)

Penguji III : Dr. Abdul Mun'im, MS. (.....) 

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 15 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak sejak masa perkuliahan hingga masa penyusunan skripsi, sulit untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan terima kasih dan rasa hormat kepada:

1. Dr. Iskandarsyah, M.S., Apt sebagai dosen pembimbing penulis yang telah menyediakan waktu dan pikiran untuk membantu dan mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S. selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini;
3. Dr. Berna Elya selaku pembimbing akademik yang telah memberikan banyak perhatian, saran, dan bantuan selama ini;
4. Seluruh dosen Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu pengetahuan dan didikannya selama ini;
5. Orang tua, adik, dan keluarga tercinta yang telah memberi bantuan dukungan baik moril maupun materil selama ini;
6. Sahabat-sahabat tercinta Ary, Dian P., Hana, Rina, Diah, Diandra, teman-teman KBI farmasetika, dan rekan-rekan farmasi 2007 lainnya, atas kebersamaan, dukungan, dan persaudaraan yang indah selama ini, terutama Lucky sebagai rekan kerja penulis yang telah banyak membantu selama masa penelitian hingga penyusunan skripsi ini;
7. Bapak Drs. Abdullah Basuki, Apt., PT. Kimia Farma atas bantuan penyediaan bahan penelitian;

8. Ibu Aroem Naroeni, DEA., PhD peneliti di *Institute of Human Virology and Cancer Biology*, Universitas Indonesia, Salemba, atas bantuan dan izin pemeriksaan sampel penelitian;
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan dan bantuannya selama penelitian dan penulisan skripsi ini berjalan.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima segala kritik dan saran demi perbaikan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan ilmu farmasi pada khususnya.

Penulis
2011

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hanifah Ramadhani
NPM : 0706264690
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Penambahan Asam Oleat Terhadap Sensitivitas Liposom pada Berbagai Kondisi pH dan Penjerapan Spiramisin Oleh Liposom

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 15 Juli 2011

Yang menyatakan



(Hanifah Ramadhani)

vii

ABSTRAK

Nama : Hanifah Ramadhani

NPM : 0706264690

Judul : Pengaruh Penambahan Asam Oleat Terhadap Sensitivitas Liposom pada Berbagai Kondisi pH dan Penjerapan Spiramisin Oleh Liposom

Perkembangan liposom sebagai sistem penghantaran obat dapat membantu menargetkan obat ke targetnya secara spesifik sehingga dapat mengurangi efek samping dan toksisitas obat. Lepasnya obat dari liposom dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, di antaranya pH dan temperatur. Liposom harus dapat stabil pada pH fisiologis tetapi juga sensitif terhadap kondisi pH yang lebih asam yaitu pH 5,5-6,0. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh penambahan asam oleat terhadap sensitivitas liposom yang mengandung spiramisin pada berbagai kondisi pH dan menguji efisiensi penjerapannya. Dalam penelitian ini digunakan tiga formula yaitu tanpa penambahan asam oleat, dengan penambahan 0,16 mol dan 0,32 mol asam oleat. Evaluasi yang dilakukan terhadap liposom adalah morfologi partikel menggunakan *Scanning Electron Microscope* dan mikroskop konfokal, distribusi ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzer*, persentase penjerapan yang diperoleh dari hasil dialisis, dan yang utama adalah sensitivitas liposom pada pH 2; pH 5,5; dan pH 8. Hasil yang didapat adalah liposom dengan diameter rata-rata 15-17 μm dan efisiensi penjerapan dari ketiga formula menurun dengan meningkatnya konsentrasi asam oleat. Adanya penambahan asam oleat dapat meningkatkan sifat sensitivitas liposom terhadap pH asam dan stabilitasnya pada pH basa. Pelepasan obat tertinggi didapat dari liposom dalam medium pH 2 dan terendah dalam medium pH 8.

Kata kunci: Asam oleat, efisiensi penjerapan, liposom, liposom sensitif pH, penargetan obat, sistem penghantaran obat
xiv + 88 halaman ; 30 gambar; 13 tabel; 8 lampiran
Daftar acuan : 24 (1979-2011)

ABSTRACT

Name : Hanifah Ramadhani

NPM : 0706264690

Title : Influence of Oleic Acid Presence on pH Sensitivity of Liposomes and Spiramycin Entrapment

The development of liposomes as drug carrier is applied for drug targetting in order to reduce adverse effects and toxicity of drugs. The drug release from liposomes is influenced by environmental conditions such as pH and temperature. As drug carrier, liposomes must be stable in physiological pH, but they have to be able to release their content in lower pH condition (pH 5.5-6.0). The aims of this research are to study about the presence of oleic acid in liposome formula containing spiramycin on their pH sensitivity and to evaluate their entrapping efficiency. There are three concentrations of oleic acid that use in liposome formula which are 0, 0.16 mol, and 0.32 mol. Liposomes were evaluated by their morphology with Scanning Electron Microscopy and convocal microscope, particle size distribution with Particle Size Analyzer, entrapment efficiency with dialysis, and their sensitivity in pH 2, 5.5 and 8 medium. Evaluation results showed that liposomes particle sizes are range from 15 to 17 μm , and it illustrated that the higher oleic acid concentration, the lower their entrapment efficiency. The percentages of drug released from liposomes proved that adding of oleic acid in liposome formula increased their sensitivity to acidic condition and their stability to basic condition. The highest drug released could be obtained from liposomes in pH 2 medium, while the lowest drug released was in pH 8 medium.

Keywords : Drug carrier, liposome, oleic acid, pH sensitive liposome, targetting
xiv + 88 pages; 30 pictures; 13 tables; 8 appendices

Bibliography : 24 (1979-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Liposom	4
2.2 Spiramisin	18
2.3 Fosfatidilkolin	19
2.4 Kolesterol	20
2.5 Asam Oleat	21
BAB 3 METODE PENELITIAN	23
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	23
3.2 Alat	23
3.3 Bahan	23
3.4 Metode Pelaksanaan.....	24
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Pembuatan Liposom Sensitif pH	31
4.2 Pengecilan Ukuran Partikel dan Pemurnian Liposom	33
4.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi Spiramisin.....	34
4.4 Evaluasi Liposom Sensitif pH	35
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR ACUAN	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Liposom konvensional..... 5
Gambar 2.2	Mekanisme pecahnya liposom oleh ultrasonikasi..... 11
Gambar 2.3	Pembentukan liposom berdasarkan teori budding off..... 12
Gambar 2.4	Mekanisme destabilisasi liposom sensitif pH..... 17
Gambar 2.5	Struktur kimia spiramisin..... 18
Gambar 2.6	Struktur kimia fosfatidilkolin..... 19
Gambar 2.7	Struktur kimia kolesterol..... 20
Gambar 2.8	Struktur kimia asam oleat..... 21
Gambar 2.9	Struktur asam oleat pada berbagai kondisi pH..... 22
Gambar 4.1	Morfologi liposom formula 1 hasil pengukuran dengan SEM (digital zoom 2000x)..... 36
Gambar 4.2	Morfologi liposom formula 1 hasil pengukuran dengan SEM (digital zoom 4000x)..... 37
Gambar 4.3	Morfologi liposom formula 2 hasil evaluasi dengan mikroskop konvokal (perbesaran 60x7)..... 38
Gambar 4.4	Diagram rata-rata distribusi ukuran partikel liposom hasil pengukuran dengan <i>Particle Size Analyzer</i> 38
Gambar 4.5	Diagram persentase efisiensi penjerapan obat oleh liposom... 39
Gambar 4.6	Grafik hubungan pH medium dengan persentase pelepasan obat selama 8 jam dari ketiga formula liposom..... 41
Gambar 4.7	Grafik hubungan konsentrasi asam oleat yang ditambahkan dengan persentase pelepasan obat selama 8 jam dari liposom pada tiga kondisi pH..... 42
Gambar 4.8	Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4..... 47
Gambar 4.9	Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4..... 47
Gambar 4.10	Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 2..... 48
Gambar 4.11	Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 2..... 48
Gambar 4.12	Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 5,5..... 49
Gambar 4.13	Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 5,5..... 49
Gambar 4.14	Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 8..... 50
Gambar 4.15	Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 8..... 50
Gambar 4.16	Morfologi liposom formula 2 hasil pengukuran dengan SEM <i>digital zoom</i> 2000x..... 51
Gambar 4.17	Morfologi liposom formula 2 hasil pengukuran dengan SEM <i>digital zoom</i> 4000x..... 51

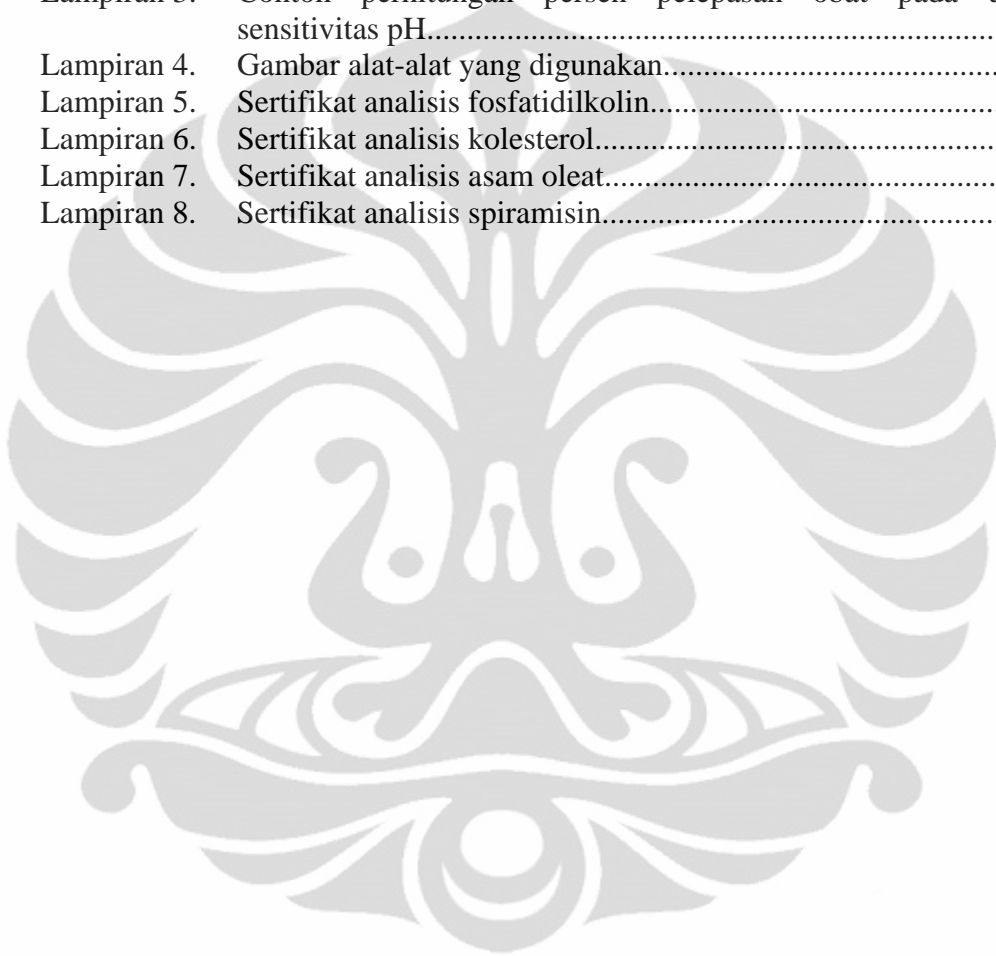
Gambar 4.18	Morfologi liposom formula 1 hasil pengukuran dengan mikroskop konfokal (perbesaran 60x7).....	52
Gambar 4.19	Morfologi liposom formula 3 hasil pengukuran dengan mikroskop konfokal (perbesaran 60x7).....	53
Gambar 4.20	Hasil pembuatan suspensi liposom formula 1, formula 2, formula 3.....	53
Gambar 4.21	Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 1 sebelum diultrasonikasi.....	54
Gambar 4.22	Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 1 setelah diultrasonikasi.....	55
Gambar 4.23	Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 2 sebelum diultrasonikasi.....	56
Gambar 4.24	Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 2 setelah diultrasonikasi.....	57
Gambar 4.25	Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 3 sebelum diultrasonikasi.....	58
Gambar 4.26	Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 3 setelah diultrasonikasi.....	59
Gambar 4.27	Grafik persentase spiramisin terdialisis dengan menggunakan medium pH 7,4 selama 24 jam.....	60
Gambar 4.28	Grafik persentase pelpasan spiramisin dari liposom formula 1 selama 8 jam.....	60
Gambar 4.29	Grafik persentase pelpasan spiramisin dari liposom formula 2 selama 8 jam.....	61
Gambar 4.30	Grafik persentase pelpasan spiramisin dari liposom formula 3 selama 8 jam.....	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1	Formula liposom sensitif pH..... 25
Tabel 4.1	Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 7,4..... 62
Tabel 4.2	Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 2..... 62
Tabel 4.3	Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 5,5..... 63
Tabel 4.4	Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 8..... 63
Tabel 4.5	Data hasil dialisis formula 1..... 64
Tabel 4.6	Data hasil dialisis formula 2..... 65
Tabel 4.7	Data hasil dialisis formula 3..... 66
Tabel 4.8	Data hasil uji sensitivitas liposom formula 1..... 67
Tabel 4.9	Data hasil uji sensitivitas liposom formula 2..... 68
Tabel 4.10	Data hasil uji sensitivitas liposom formula 3..... 69
Tabel 4.11	Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 1 dengan menggunakan Particle Size Analyzer..... 70
Tabel 4.12.	Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 2 dengan menggunakan Particle Size Analyzer..... 73
Tabel 4.13.	Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 3 dengan menggunakan Particle Size Analyzer..... 76

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema pembuatan liposom.....	79
Lampiran 2. Contoh perhitungan efisiensi penjerapan.....	80
Lampiran 3. Contoh perhitungan persen pelepasan obat pada uji sensitivitas pH.....	81
Lampiran 4. Gambar alat-alat yang digunakan.....	82
Lampiran 5. Sertifikat analisis fosfatidilkolin.....	85
Lampiran 6. Sertifikat analisis kolesterol.....	86
Lampiran 7. Sertifikat analisis asam oleat.....	87
Lampiran 8. Sertifikat analisis spiramisin.....	88



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Metode penghantaran obat dapat mempengaruhi efek obat di dalam tubuh, karena dalam penghantaran mencapai tempat kerjanya, obat seringkali menemui hambatan atau gangguan sehingga mengurangi khasiat dari obat tersebut. Adanya toksisitas dan efek samping obat disebabkan oleh terdistribusinya obat ke jaringan lain selain target atau reseptornya. Oleh karena itu, diperlukan suatu sistem penghantaran obat (*drug delivery systems*) yang dikembangkan untuk membawa obat langsung ke target obat tersebut, dapat berupa reseptor, jaringan, atau organ, sehingga obat tidak terdistribusi ke jaringan lain dan dapat menurunkan efek samping obat (Kaparissides, Alexandridou, Kotti, & Chaitidou, 2006). Beberapa sistem pembawa obat telah dikembangkan untuk meminimalisir degradasi obat di dalam tubuh, mencegah efek samping obat, dan meningkatkan bioavailabilitas obat, seperti polimer, lipid, atau lipoprotein yang berupa nanopartikel atau mikropartikel. Sistem pembawa juga dapat ditempelkan suatu ligan, contohnya antibodi, untuk menargetkannya langsung ke reseptor atau jaringan yang menjadi target obat tersebut (Kaparissides, Alexandridou, Kotti, & Chaitidou, 2006).

Salah satu vesikel pembawa obat yang telah dikembangkan adalah liposom, yaitu suatu vesikel yang tersusun dari lipid lapis ganda. Liposom telah digunakan sebagai pembawa obat-obat antiinflamasi, antibakteri, obat-obat tumor, terapi gen, dan lainnya. Sebagai pembawa obat-obat ke jaringan inflamasi, jaringan tumor, ataupun yang terinfeksi oleh bakteri atau virus, pengembangan liposom diharapkan dapat meningkatkan penghantaran (pelepasan) obat.

Untuk memaksimalkan fungsinya sebagai sistem penghantaran obat, liposom haruslah stabil. Namun, meskipun sifat kestabilan yang tinggi diperlukan, liposom juga harus dapat melepaskan kandungan zat aktifnya secara efisien ke reseptor, sel, ataupun jaringan yang menjadi sasaran (Wu, Zhao, & Lee, 2007).

Oleh karena itu, dikembangkan jenis liposom yang pelepasan obatnya dipengaruhi oleh kondisi lingkungan di sekitar jaringan yang terinfeksi ataupun jaringan inflamasi dan lingkungan kompartemen endosom. Kondisi tersebut terutama dipengaruhi oleh pH lingkungan yang lebih asam yaitu pH 5,5-6,0. Konsep liposom sensitif pH didasari oleh kemampuan dari protein virus yang dapat melebur dengan membran endosom pada kondisi pH 5-6. Maka, liposom sensitif pH dibuat bertujuan untuk meningkatkan pelepasan dengan membran endosom sehingga meningkatkan pelepasan obat pada pH lingkungan tersebut (Ropert, 1999).

Kestabilan dan sensitivitas liposom pada pH tertentu dapat dipengaruhi oleh bahan penyusun liposom itu sendiri. Salah satu bahan penyusun liposom yang dapat digunakan adalah asam oleat. Asam oleat dapat menstabilkan liposom pada pH netral namun tidak pada pH yang asam (Wu, Zhao, & Lee, 2007). Selain itu, asam oleat merupakan asam lemak ampifil rantai panjang yang mengandung gugus karboksilat yang dapat menginduksi pelepasan liposom dengan endosom (Connor, Yatvin, & Huang, 1984). Beberapa formulasi liposom sensitif pH dengan menggunakan dioleil fosfatidilkolin ataupun dioleil fosfatidiletanolamin, kolesterol, dan asam oleat telah diteliti dapat meningkatkan efisiensi penghantaran sitoplasma dari DNA dan protein terapeutik (Huang & Zhou, 1988). Sehingga, perlu diteliti pengaruh dari besarnya komposisi asam oleat dalam liposom terhadap kesensitivitas (kestabilan) liposom pada berbagai lingkungan pH yang cukup ekstrem.

Sebelumnya, telah berhasil dilakukan penelitian terhadap penyerapan liposom fosfatidilkolin yang digunakan sebagai pembawa obat makromolekular yang bersifat protein-base seperti doksorubisin dan telah didapat hasil uji yang baik responnya terhadap gradien pH (Mayer, L., Bally, Miltines, Ginsberg, & Cullis, 1990). Antibiotik lain yaitu ampoterisin B yang merupakan golongan makrolid, juga telah digunakan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan spiramisin sebagai model obat karena spiramisin termasuk antibiotik golongan makrolid yang memiliki sifat seperti doksorubisin dan ampoterisin. Selain itu, spiramisin telah digunakan sebagai dan efektif untuk pencegahan dan pengobatan toksoplasmosis.

Universitas Indonesia

1.2. Tujuan Penelitian

Mempelajari pengaruh konsentrasi asam oleat terhadap stabilitas liposom yang mengandung spiramisin pada berbagai kondisi pH dan mengevaluasi kemampuan penjerapannya.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Liposom

Liposom adalah mikropartikel yang memiliki rentang ukuran 0,03-0,1 μm , terdiri dari dua lapis fosfolipid yang mengenkapsulasi fase air. Berikut ini beberapa definisi dari liposom:

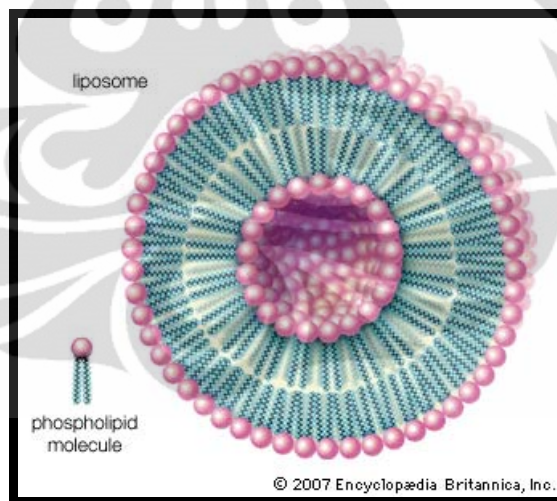
- a. Liposom adalah kantung lipid yang tertutup dan dalam rentang mikron dan submikron terdispersi dalam suatu lingkungan yang berair (Barenholz & Crommelin, 1994).
- b. Liposom adalah membran bilayer phospholipid dengan volume cairan yang terjebak di dalamnya (Wu, Zhao, & Lee, 2007).
- c. Liposom adalah vesikel mikroskopik sederhana di mana terdapat struktur lipid bilayer dengan volume cairan yang terkurung di dalam membran (Biju, Talegaonkar, Mishra, & Khar, 2006).

Liposom dapat digunakan sebagai sistem penghantaran obat dengan rute intravena, intramuskular, intraperitoneal, dan oral, namun intravena adalah rute yang lebih sering digunakan. Berdasarkan Gregoriadis (1972), liposom telah diaplikasikan sebagai pembawa beberapa obat seperti antineoplastik, antimikroba, dan imunomodulator. Liposom juga telah digunakan untuk penghantaran obat dalam untuk infeksi intraseluler (Ranade & Hollinger, 2003).

Liposom memiliki banyak kelebihan dalam sistem penghantaran obat. Ketika diberikan secara parenteral, baik secara intravena, subkutan, maupun intramuskular, liposom dapat melindungi obat dari proses degradasi dan mengendalikan pelepasan obat yang terjebak di dalamnya. Dengan demikian liposom dapat mengurangi efek samping obat dengan mengendalikan pelepasan obat bebas yang tersedia dalam aliran darah. Liposom juga dapat membatasi paparan obat tertentu terhadap jaringan tubuh (Tyle, Praveen, 1990). Kelebihan

karakteristik farmasetik dan farmakologi dari liposom adalah (Barenholz & Crommelin, 1994):

1. Liposom memiliki bagian lipofilik dan hidrofilik dalam satu sistem sehingga dapat digunakan sebagai pembawa obat-obat ataupun molekul-molekul hidrofobik, amfipatik, dan hidrofilik.
2. Liposom telah terkarakterisasi dengan baik, secara fisik dan kimia.
3. Kondisi liposom secara biologis ditentukan oleh komposisi dan sifat fisiknya.
4. Liposom bersifat biokompatibel kemampuan biodegradabelnya, toksisitas rendah, dan timbulnya reaksi imunogenisitasnya rendah.
5. Liposom dapat digunakan sebagai pembawa obat yang pelepasannya terkontrol di dalam cairan tubuh dan di dalam sel.
6. Penggunaan liposom dapat mengurangi resiko terpaparnya jaringan yang sensitif oleh obat-obat toksik.
7. Liposom dapat diberikan melalui beberapa rute pemberian.



[Sumber: Encyclopedia Britanica, 2007]

Gambar 2.1. Liposom konvensional

2.1.1. Klasifikasi Liposom

Liposom dapat diklasifikasikan dengan beberapa cara. Berdasarkan jumlah lapisan dan diameter, liposom dapat dikelompokkan menjadi *multilamellar*

Universitas Indonesia

vesicles (MLV's) dengan diameter >200 nm, *large unilamellar vesicles* (LUV's) dengan diameter 100-400 nm, dan *small unilamellar vesicles* (SUV's) dengan diameter <100 nm. Berdasarkan muatannya liposom diklasifikasikan menjadi liposom kationik, liposom anionik, dan liposom netral (Wu, Zhao, & Lee, 2007). Berdasarkan bahan penyusun dan model penghantaran obatnya, liposom diklasifikasikan dalam tujuh jenis yaitu (Biju, Talegaonkar, Mishra, & Khar, 2006):

2.1.1.1. Liposom Konvensional

Bahan penyusun liposom konvensional terdiri dari fosfolipid bermuatan netral ataupun bermuatan negatif dan kombinasi dengan kolesterol. Liposom dapat digunakan untuk penargetan pada retikulum endoplasma (RES). Karakteristik yang ditunjukkan yaitu memiliki waktu paruh sirkulasi yang pendek.

2.1.1.2. Liposom Sensitif pH

Liposom jenis ini terutama menggunakan fosfatidiletanolamin atau dioleil fosfatidiletanolamin, dikombinasi dengan kolesterol hemisuksinat atau asam oleat sebagai bahan penyusunnya. Liposom melebur dengan membran sel atau membran endosom, mengalami endositosis, dan akan melepaskan kandungan zat aktifnya pada kondisi pH yang rendah di sitoplasma. Liposom jenis ini dapat digunakan sebagai pembawa obat yang bersifat basa lemah dan obat-obat makromolekular.

2.1.1.3. Liposom Kationik

Liposom kationik menggunakan lipid yang bermuatan positif seperti dioleiloksipropil-trimetilamonium bromida (DOTMA). Liposom jenis ini dapat melebur dengan membran endosom, digunakan untuk penghantaran molekul-molekul yang bermuatan negatif (DNA dan RNA), bersifat toksik pada dosis yang tinggi, dan penggunaannya terbatas hanya untuk pemberian lokal.

Universitas Indonesia

2.1.1.4. Liposom Sirkulasi Panjang (*Stealth Liposome*)

Liposom jenis ini, pada permukaannya disalut oleh komponen hidrofilik. Bahan penyusun yang digunakan adalah lipid diantaranya bermuatan netral yang memiliki suhu transisi yang tinggi, kolesterol yang bermuatan positif, dan liposom yang ditempelkan 5-10% polietilen glikol. Karakteristik yang ditunjukkan adalah opsonisasi yang rendah sehingga kecepatan penganbiban oleh sistem retikulum endoplasmanya rendah, dan memiliki waktu paruh yang panjang (40 jam).

2.1.1.5. Imuno-liposom

Bahan penyusun liposom jenis ini sama seperti liposom konvensional atau liposom sirkulasi panjang, dengan ditempelkan sekuens antibodi atau sekuens lain yang sesuai. Liposom ini dapat digunakan sebagai mediasi reseptor endositosis, memiliki penargetan yang spesifik, dapat melepaskan kandungan terapeutiknya di jaringan target yang selanjutnya akan berdifusi melewati membran plasma.

2.1.1.6. Liposom Magnetik

Liposom jenis ini tersusun dari fosfatidilkolin, kolesterol, sejumlah kecil senyawa aldehid rantai lurus, dan partikel magnetik koloid besi oksida. Pada permukaannya, terdapat tempat pengikatan untuk molekul lain seperti antibodi.

2.1.1.7. Liposom Sensitif Suhu

Jenis fosfolipid yang digunakan sebagai bahan penyusun liposom jenis ini adalah dipalmitoil fosfatidilkolin. Pelapasan bahan terapeutik dari liposom di sel target berada pada kondisi suhu yang tinggi, dimana suhu tersebut merupakan suhu transisi dipalmitoil fosfatidilkolin tersebut.

2.1.2. Bahan Pembentuk Liposom

Bahan yang digunakan sebagai penyusun liposom, yaitu fosfolipid, lipoprotein, merupakan bahan alami sehingga biokompatibel di dalam tubuh. Lipid penyusun liposom dapat berupa fosfolipid dan lipid golongan sterol seperti kolesterol. Fosfolipid, sebagai bahan utama penyusun liposom diklasifikasikan menjadi empat kelompok berdasarkan bahan penyusunnya (Barenholz & Crommelin, 1994):

2.1.2.1. Fosfolipid Alam

Fosfolipid alam didapat dari telur atau kedelai. Contoh dari fosfolipid alam adalah fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, sfingomielin (hanya berasal dari telur), fosfatidilinositol (hanya berasal dari kedelai). Fosfolipid yang berasal dari telur (fosfolipid hewan) memiliki rantai asil jenuh pada posisi 1 dan rantai asil tidak jenuh pada posisi 2. Fosfolipid tumbuhan memiliki rantai asil tidak jenuh pada posisi 1 dan 2, dengan asam linoleat sebagai komponen asil utama.

2.1.2.2. Fosfolipid Alam Termodifikasi

Fosfolipid alam dimodifikasi sebagian secara kimia, dengan cara hidrogenasi, untuk menurunkan derajat ketidakjenuhan fosfolipid. Hal tersebut dapat meningkatkan resistensinya terhadap peroksidasi. Selain hidrogenasi, modifikasi juga dapat dilakukan pada bagian polar pada fosfolipid dengan menggunakan enzim fosfolipase. Contoh dari modifikasi tersebut adalah fosfatidilgliserol yang mengalami transfosfatidilasi menjadi fosfatidilgliserol-fosfolipase D.

2.1.2.3. Fosfolipid Semisintetik dan Sintetik

Fosfolipid sintetik didapat dengan mengganti rantai alkil dari fosfolipid alam secara kimiawi. Fosfolipid sintetik diperoleh dengan cara reaksi kimiawi.

2.1.3. Pembuatan Liposom

Sifat dan penampilan liposom sangat tergantung dari komposisi dan metode pembuatannya. Metode pembuatan dan pemilihan bahan pembentuk liposom bergantung pada (Barenholz & Crommelin, 1994):

- a. Sifat-sifat liposom yang ingin dibentuk, berdasarkan aspek farmakokinetik, rute pemberian, kecepatan disintegrasi, serta pertimbangan pembentukan liposom *long-circulating*.
- b. Karakteristik fisikokimia dari obat yang akan dijerap
- c. Waktu simpan liposom (*shelf life*)
- d. Aspek avabilitas, ekonomis, farmasetis, dan keamanan dari bahan pembuatan liposom.

Proses pencampuran obat ke dalam bahan-bahan pembentuk liposom dan penyerapan obat bergantung pada liposfilisitas obat. Obat-obat yang bersifat lipofilik dilarutkan ke dalam fase lipid saat pembuatan liposom, sedangkan obat-obat hidrofilik dapat terenkapsulasi secara pasif pada saat liposom terbentuk (Wu, Zhao, & Lee, 2007).

Secara umum, pembuatan liposom dilakukan dengan melarutkan lipid dengan pelarut yang sesuai, yaitu pelarut organik yang mudah menguap ataupun campuran pelarut (seperti kloroform, eter, etanol, atau kombinasinya), diikuti dengan penghilangan pelarut, hidrasi lipid dan reduksi ukuran partikel. Pelarut dihilangkan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang kemudian akan membentuk lapisan tipis. Proses hidrasi lipid dilakukan dengan mencampurkan fase air ke lapisan tipis tersebut dengan menggunakan suhu di atas fase transisi dari fosfolipid dimana terjadi perubahan dari fase gel ke fase cairan. Reduksi ukuran partikel dapat dilakukan dengan metode sonikasi, ekstruksi, homogenisasi

Universitas Indonesia

atau homogenisasi tekanan tinggi. Selain reduksi ukuran partikel, juga dapat dilakukan reduksi jumlah lapisan yaitu dengan metode *freeze and thaw* (Biju, Talegaonkar, Mishra, & Khar, 2006; Martin, 1990). Berdasarkan proses penting pembuatan liposom, secara umum metode pembuatan liposom dibagi menjadi (Barenholz & Crommelin, 1994):

2.1.3.1. Hidrasi

Proses hidrasi dapat dilakukan dengan tiga cara:

a. Hidrasi lapis tipis

Hidrasi lapis tipis dilakukan dengan proses pengocokkan mekanis. Lipid dilarutkan dalam pelarut organik, kemudian pelarut diuapkan dengan alat *rotatory evaporation*, dan vesikel yang terbentuk akan terdeposit di dasar wadah. Produk yang dihasilkan berupa MLV (*Multilamellar Large Vesicles*) berukuran sekitar 10 μm (Martin, 1990)

b. Penggantian dengan pelarut organik

Ada dua macam pelarut organik yang dapat digunakan yaitu pelarut organik yang dapat bercampur air seperti etanol, metanol, dan isopropilalkohol; dan tidak bercampur air seperti eter. Produk yang dihasilkan adalah MLV, OLV (*Oligolamellar Vesicles*), dan UV (*Unilamellar Vesicles*).

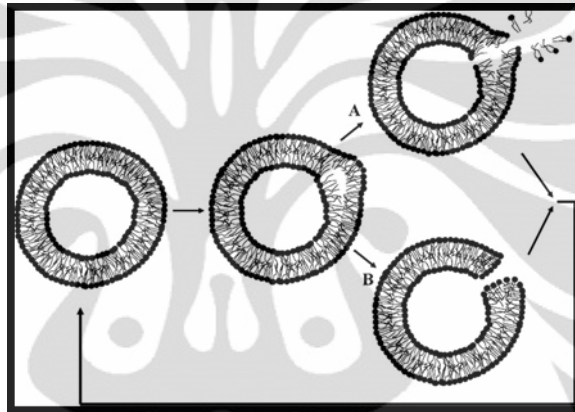
c. Pencampuran dengan surfaktan.

Proses pencampuran antara surfaktan dengan lipid menghasilkan misel, diikuti dengan penguapan pelarut, dan menghasilkan produk OLV, UV, dan SUV (*Small Unilamellar Vesicles*).

2.1.3.2. Pengaturan Ukuran

a. Ultrasonikasi

Ultrasonik menghasilkan *small unilamellar liposom*, dengan ukuran minimal 20 nm. Mekanisme pecahnya liposom oleh ultrasonikasi adalah terbentuknya gas-gas kecil sementara di dalam bagian hidrofobik dari *lipid bilayer*. Adanya gas-gas tersebut dapat memecah fragmen membran dari liposom dan membentuk agregat yang lebih kecil (Schroeder, Kost, & Barenholz, 2009)



[Sumber: Shroeder, Kost, & Barenholz, 2009]

Gambar 2.2. Mekanisme pecahnya liposom oleh ultrasonikasi.

b. Ekstruksi

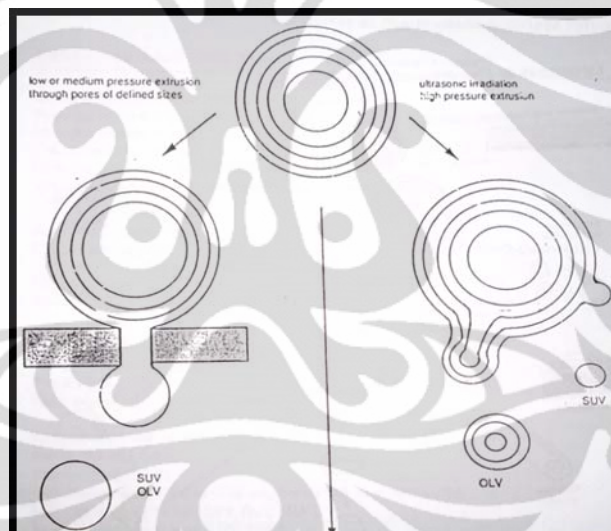
Metode ekstrusi dapat terbagi menjadi ekstrusi bertekanan tinggi dan ekstrusi bertekanan rendah. Ekstrusi bertekanan tinggi menggunakan tekanan di atas 35 MPa, menghasilkan vesikel yang berukuran kecil dan sebagian besar *unilamellar*. Sedangkan, pada ekstrusi bertekanan rendah, tekanan yang digunakan hingga 14 MPa, dan ukuran dan distribusi ukuran yang dihasilkan bergantung pada pori membran yang digunakan. Jenis-jenis membran yang dapat digunakan adalah polikarbonat, keramik, dan *stainless steel*.

2.1.4. Mekanisme Pembentukan Liposom

Pembentukan liposom dapat dijelaskan dengan dua teori yaitu teori pertunasan (*budding off*) dan teori fragmen fosfolipid lapis ganda (Barenholz & Crommelin, 1994).

2.1.4.1. Teori pertunasan (*budding off*)

Teori ini menjelaskan bahwa liposom terbentuk dari hidrasi komponen fosfolipidnya dalam susunan lapisan yang teratur menyebabkan terbentuknya tunas dari lipid lapis ganda dan mengarah pada pembentukan ukuran yang tetap.



[Sumber: Barenholz & Crommelin, 1994]

Gambar 2.3. Pembentukan liposom berdasarkan teori *budding off*

2.1.4.2. Teori Fragmen Fosfolipid Lapis Ganda (*Bilayer Phospholipid Fragment/BPF*)

Pembentukan hidrasi fosfolipid lapis ganda disebabkan adanya ketidakstabilan termodinamik saat molekul hidrofobik terpapar fase air melebur dengan fragmen lain untuk membentuk vesikel lipid. Ketidakstabilan

termodinamik pada tepi fragmen fosfolipid lapis ganda menyebabkan lengkungan dan saat fragmen lipid lapis ganda berdekatan akan terbentuk vesikel.

2.1.5. Mekanisme Penjerapan Obat oleh Liposom

Mekanisme obat-obat ataupun ligan dapat terjerat di dalam liposom bergantung pada sifat-sifat fisikokimianya, yaitu enkapsulasi (untuk senyawa-senyawa hidrofilik), solubilisasi pada fase lipid (untuk senyawa-senyawa lipofilik), konjugasi dengan rantai lipid (untuk pro-drug yang merupakan lipid derivatisasi), kompleksasi elektrostatis untuk molekul-molekul polianionik seperti asam nukleat (Wu, Zhao, & Lee, 2007).

2.1.6. Stabilitas Liposom

Liposom dapat berubah kestabilannya selama kondisi penyimpanan, dimana kestabilannya dipengaruhi baik secara kimia maupun fisika. Perubahan kestabilan secara kimia dan fisik dapat mempengaruhi disposisi obat yang terjerap dan keamanan liposom.

2.1.6.1. Stabilitas Kimia

Stabilitas liposom secara kimiawi dipengaruhi oleh reaksi peroksidasi dari fosfolipid dan sterol dan reaksi hidrolisis dari fosfolipid. Reaksi hidrolisis dipengaruhi oleh suhu, rigiditas, dan pH. Degradasi dari fosfolipid karena hidrolisis dapat mempengaruhi fungsi lapis ganda dari liposom, seperti permeabilitasnya. Contohnya pada fosfatidilkolin, reaksi hidrolisis menyebabkan degradasi ikatan esternya. Reaksi peroksidasi terjadi pada ikatan tidak jenuh rantai asil fosfolipid yang diinduksi oleh autooksidasi melalui mekanisme radikal bebas atau fotooksidasi. Pencegahan terjadinya reaksi peroksidasi dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

- a. Menggunakan lipid yang hanya memiliki ikatan jenuh.
- b. Lipid disimpan pada kondisi vakum atau dengan gas inert.

Universitas Indonesia

- c. Disimpan di tempat gelap untuk menghindari oksidasi oleh cahaya.
- d. Menggunakan bahan-bahan kimia yang kualitasnya bagus.
- e. Menghindari logam berat.
- f. Menambahkan agen pengkelat.
- g. Menambahkan antioksidan seperti α -tokoferol, hidroksitoluen, hidroksianisol, dan lainnya.
- h. Menggunakan metode *freeze dry* (juga dapat digunakan untuk pencegahan reaksi hidrolisis).

2.1.6.2. Stabilitas Fisik

Liposom dapat membentuk agregat pada kondisi tertentu, terutama adanya hidrasi, yang kemudian agregat-agregat tersebut dapat bergabung. Pembentukan agregat dapat dipengaruhi oleh lipid penyusun lapis ganda, ukuran partikel, kekuatan ion dari medium inkubasi, obat yang dienkapsulasi, dan suhu. Pencegahan agregasi umumnya dapat dilakukan dengan penambahan molekul bermuatan seperti fosfatidilgliserol pada kondisi pH asam, atau kolesterol hemisuksinat pada kondisi pH netral dan dengan penambahan molekul hidrofilik yang besar seperti PEG (polietilen glikol).

2.1.7. Evaluasi

Setelah proses tahapan pembuatan liposom selesai, dilakukan evaluasi-evaluasi terhadap liposom tersebut yang meliputi:

2.1.7.1. Morfologi (Bentuk Fisik)

Evaluasi morfologi meliputi evaluasi fisik terhadap liposom yang terbentuk, evaluasi yang dilakukan antara lain evaluasi terhadap ukuran dan tebal liposom yang terbentuk. Alat yang digunakan adalah mikroskop elektron yaitu *Scanning Electron Microscopy* (SEM) ataupun *Tomography Electron Microscopy* (TEM). Untuk dapat mengukur ukuran liposom yang mikroskopik diperlukan

Universitas Indonesia

suatu instrumen berupa SEM, sedangkan untuk mengukur ketebalan yang terbentuk, diperlukan suatu instrumen yang dapat menganalisa liposom secara tiga dimensi, oleh karena itu diperlukan alat berupa TEM.

a. SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Terkadang liposom memiliki ukuran yang cukup besar untuk dilihat dengan menggunakan mikroskop biasa (diameter 1-10 μm). Namun karena keterbatasan ukuran yang dapat dilihat oleh mikroskop optik biasa, maka mikroskop elektron memiliki peran yang penting dalam menampilkan ukuran dan bentuk nanopartikel yang tidak dapat terlihat dengan mikroskop optik biasa. Tidak semua liposom dapat dilihat dengan menggunakan SEM secara langsung, liposom mungkin tidak cukup memiliki agen pengkontras, sehingga penambahan agen pengkontras dari luar perlu dilakukan. Agen pengkontras yang biasa ditambahkan biasanya emas. (Barenholz & Crommelin, 1994).

b. TEM (*Transmission Electron Microscopy*)

Mirip dengan SEM, TEM (*Transmission Electron Microscopy*) merupakan suatu metode untuk mengevaluasi ukuran dan morfologi nanopartikel. Tomografi TEM memiliki resolusi yang lebih besar daripada SEM dan gambar yang dihasilkan dapat diperbesar lebih banyak daripada gambar yang dihasilkan oleh SEM. (Barenholz & Crommelin, 1994).

2.1.7.2. Distribusi Ukuran Partikel

Distribusi ukuran partikel diukur dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* berupa *Laser Light Scattering* atau *Coulter Counter*. Mekanisme dalam metode *Laser Light Scattering* adalah difraksi cahaya, difusi cahaya, atau keduanya. Metode ini lebih sederhana dan sangat efisien. Rentang ukuran partikel yang diukur cukup luas yaitu antara 10 nm – 1 mm. Sedangkan, pada metode *Coulter Counter*, mekanisme yang terjadi adalah adanya tahanan elektrik saat

Universitas Indonesia

dispersi partikel melewati dua elektroda. Ketika kepadatan partikel dispersi cukup, setiap pulsa tegangan akan berinteraksi dengan setiap partikel sehingga distribusi ukuran partikel dapat diperkirakan (Williams & Vaughn, 2007).

2.1.7.3. Daya Jerap Obat

Evaluasi daya jerap obat dilakukan dengan menghitung zat aktif yang terdialisis. Dialisis merupakan cara yang dilakukan untuk membersihkan spiramisin yang tidak terjerap oleh liposom. Untuk mengetahui obat yang terdialisis, hasil pengukuran serapan dimasukkan ke dalam rumus berat akumulatif:

$$W_t = \frac{(y_t - a) \times m}{b \times 1000} \quad (2.1)$$

$$W_n = \frac{(y_n - a) \times s}{b \times 1000} + \dots + W_t \quad (2.2)$$

Dalam rumus tersebut, W_t adalah jumlah (mg) obat yang terdialisis dari sampel waktu pertama, Y_t adalah serapan sampel, m adalah volume medium reseptor, a dan b didapat dari persamaan kurva kalibrasi dan 1000 adalah faktor konversi dari μg ke mg. Sedangkan, W_n adalah berat akumulatif sampel jam berikutnya, Y_n adalah serapan sampel, dan s adalah volume sampel, seterusnya hingga jam terakhir pengambilan sampel.

Pengukuran daya jerap liposom dilakukan dengan membandingkan konsentrasi yang obat yang terjerap dengan konsentrasi total dengan rumus:

$$\% \text{ EP} = \frac{C_{\text{terjerap}}}{C_t} \times 100\% \quad (2.3)$$

C_{terjerap} adalah konsentrasi obat yang terjerap liposom, merupakan selisih dari konsentrasi total obat dengan konsentrasi akumulatif obat yang tidak terjerap

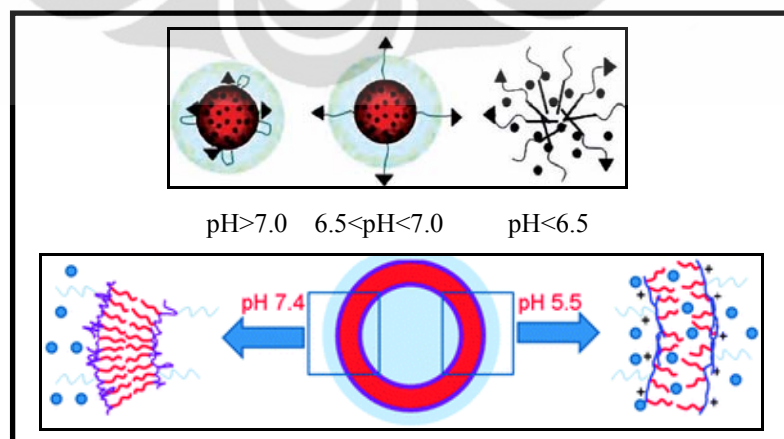
liposom. Ct adalah kosentrasi total obat. Kosentrasi obat didapat dari hasil pengukuran serapan larutan (Shivhare, Ambulkar, Mathur, Bhusari, & Godbole, 2009).

2.1.7.4. Pelepasan Obat pada Berbagai Kondisi pH

Pengukuran pelepasan obat dilakukan dengan melarutkan suspensi liposom pada larutan dapar dengan berbagai pH, kemudian diinkubasi selama beberapa menit pada suhu 37°C. Setelah itu, kosentrasi zat aktif yang terdapat dalam larutan dapar akan diperoleh dengan pengukuran serapan larutan (Rane & Prabhakar, 2009)

2.1.8. Liposom Sensitif pH

Liposom sensitif pH adalah liposom yang komponen lipidnya akan mengalami destabilisasi jika ada perubahan pH. Mekanisme pelepasan obat dari liposom sensitif pH yaitu liposom akan mengalami endositosis, terinternalisasi di endosom, dimana pH lingkungan menurun dari 7,4 menjadi 5,0, kemudian liposom akan melebur dengan membran endosom. Struktur lipid dari bahan penyusun liposom akan mengalami transisi dari fase lamelar menjadi fase heksagonal. Liposom akan melepaskan bahan terapetiknya di lisosom.

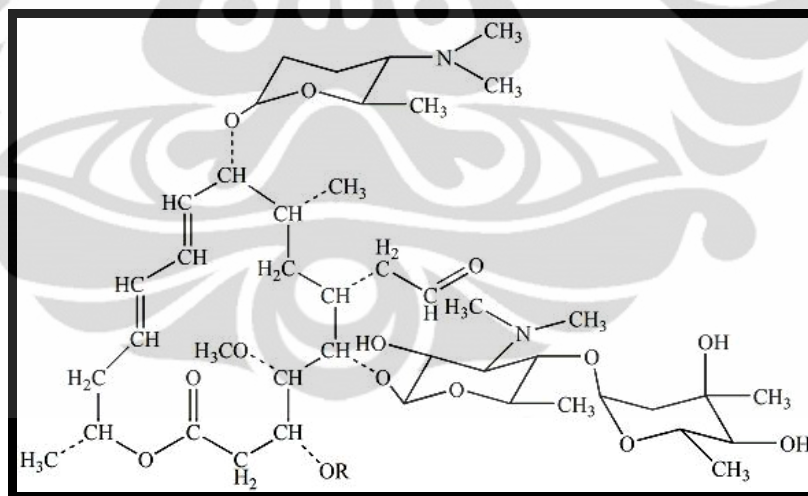


[Sumber: Shen, Tang, Radosz, Kirk, Murdoch, 2008]

Gambar 2.4. Mekanisme destabilisasi liposom sensitif pH

Komposisi bahan penyusun liposom dapat mempengaruhi kemampuan interaksinya dengan sel. Komponen lipid penyusun liposom dapat dikelompokkan menjadi lima komponen yaitu fosfolipid, asam amino terasilasi, asam lemak, kolesterol dan derivatnya, dan molekul ampifilik rantai ganda lainnya. Penggunaan fosfolipid jenis fosfatidiletanolamin dapat meningkatkan pelepasan liposom dengan membran endosom dan meningkatkan transfeksi. Penggunaan asam oleat (OA), palmitoilhomosistein (PHC), dan kolesterol hemisuksinat (CHEMS) telah diteliti secara *in vivo* dapat meningkatkan stabilitas liposom pada pH serum yaitu pH 7,4 dimana lipid berada dalam fase lamelar (Ropert, 1999). Berdasarkan penelitian, penggunaan liposom sensitif pH digunakan untuk meningkatkan penghantaran protein, senyawa sitotoksik, RNA, dan DNA ke sitoplasma.

2.2. Spiramisin (Sweetman, 2009)



[Sumber: Sweetman, 2009]

Gambar 2.5. Struktur kimia spiramisin (telah diolah kembali)

a. Deskripsi:

Spiramisin adalah antibiotik golongan makrolid yang memiliki cincin lakton, diproduksi oleh bakteri strain *Streptomyces ambifaciens*. Spiramisin bersifat basa lemah dan sangat sedikit larut air.

Universitas Indonesia

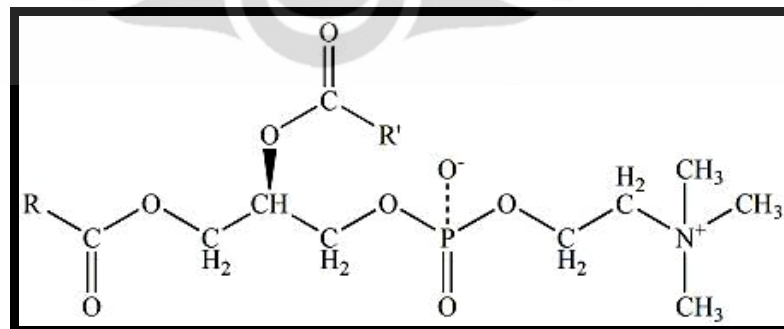
- b. Bobot molekul: 843.06
- c. Pemerian: serbuk berwarna putih atau sedikit kuning
- d. Kelarutan: sangat larut dalam etanol, metanol, aseton, dan kloroform (Moffat, Osselton, & Brian, 2005).
- e. Aktivitas antimikroba:

Obat ini efektif terhadap kuman stafilocokus, streptokokus, pneumokokus, enterokokus, *Neisseria*, *Boretella pertusis*, *Rickettsia*, ameba dan sangat efektif terhadap *Toxoplamo gondii*. Golongan makrolid menghambat sintesis protein kuman dengan jalan berikatan secara reversible dengan ribosom subunit 50S, dan umumnya bersifat bakteriostatik, walaupun terkadang dapat bersifat bakteriosidal untuk kuman yang sangat peka (Departemen Farmakologi dan Terapetik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007).

- f. Fungsi:

Spiramisin digunakan sebagai pengobatan alternatif toksoplasmosis bagi pasien yang tidak dapat diobat dengan pirimeyamin dan sulfonamid, contohnya ibu hamil. Selain terapi, spiramisin juga digunakan sebagai pencegahan transmisi tranplental dari ibu ke anak.

2.3. Fosfatidilkolin (lesitin)

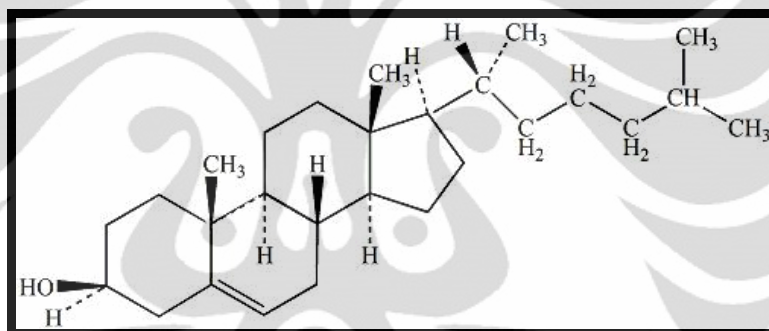


[Sumber: Christie, 2010]

Gambar 2.2. Struktur kimia fosfatidilkolin (telah diolah kembali)

Fosfatidilkolin, yang memiliki nama trivial lesitin, adalah fosfolipid yang paling banyak terdapat di hewan dan tumbuhan. Selain itu, fosfatidilkolin merupakan molekul utama penyusun membran lipid *bilayer*, sehingga fosfatidilkolin dapat digunakan sebagai bahan penyusun liposom dan dapat bersifat *biodegradable*. Fosfatidilkolin juga merupakan komponen integral dari lipoprotein dan fosfolipid utama yang bersirkulasi di plasma. Fosfatidilkolin dapat bersifat netral sampai *zwitterionic*, memiliki rentang pH yang luas dari asam kuat sampai basa kuat.

2.4. Kolesterol (American Pharmaceutical Association, 1994)



[Sumber: American Pharmaceutical Association, 1994]

Gambar 2.3. Struktur kimia kolesterol (telah diolah kembali)

a. Deskripsi:

Kolesterol adalah steroid alkohol yang tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik. Kolesterol terutama terdapat dalam membran sel, lipoprotein plasma, dan empedu, dimana senyawa ini dapat berasosiasi dengan lipid lain seperti fosfolipid dan asam empedu.

b. Sinonim:

3beta-Hydroxy-5-cholestene, Cholest-5-en-3beta-ol, 3beta-Cholest-5-en-3-ol

c. Bobot molekul: 386,66

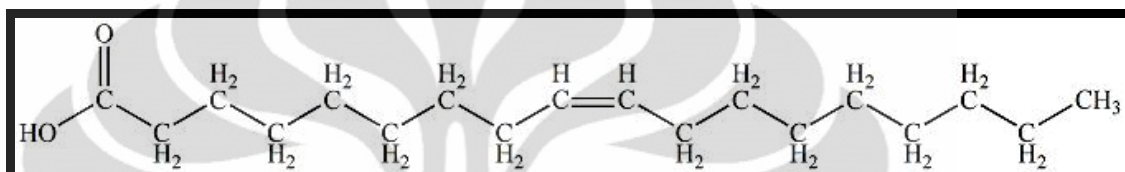
d. Pemerian: kristal berwarna putih.

e. Titik leleh: 140°C

f. Fungsi:

Dalam formulasi farmasetik, kolesterol biasa digunakan sebagai agen pengemulsi. Dalam pembuatan liposom sensitif pH ini, kolesterol digunakan sebagai penstabil liposom pada pH serum yaitu pH 7,4 (Ropert, 1999).

2.5. Asam Oleat (American Pharmaceutical Association, 1994)



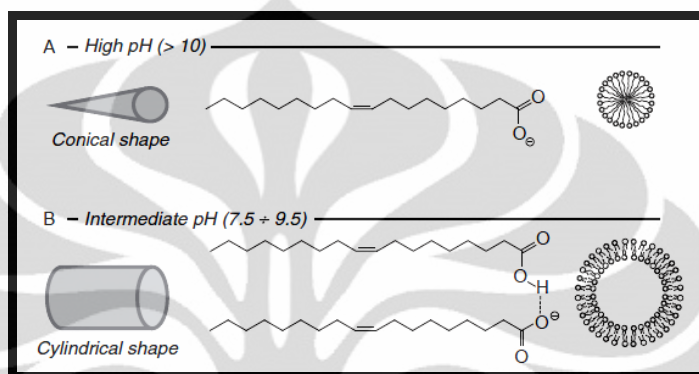
[Sumber: American Pharmaceutical Association, 1994]

Gambar 2.4. Struktur kimia asam oleat (telah diolah kembali)

- Sinonim: elaic acid, oleinic acid, cis-9-octadecenoic acid, 9,10-octadecenoic acid
- Nama kimia: (Z)-9-octadecenoic acid
- Bobot molekul: 282,47
- Pemerian:
Asam oleat merupakan minyak berbentuk cair, berwarna kuning hingga coklat muda, berasa dan berbau seperti lemak.
- Kelarutan:
- Sangat larut dalam benzen, kloroform, etanol (95%), eter, heksan; praktis tidak larut air.
- Kegunaan:

Dalam formulasi, asam oleat biasa digunakan sebagai emulsifier dalam makanan atau formulasi sediaan topikal. Dalam pembuatan liposom sensitif pH, asam oleat berfungsi sebagai penstabil fosfolipid pada liposom dalam plasma (dalam sirkulasi) juga meningkatkan induksi pelepasan liposom dengan endosom (Connor, Yatvin, & Huang, 1984).

Mekanisme asam oleat dalam meningkatkan sensitivitasnya pada pH asam adalah asam oleat terprotonasi secara sempurna pada pH di bawah 7, sehingga asam oleat pecah menjadi droplet-droplet dan dapat memecah liposom pada pH asam. Sedangkan pada pH 7 sampai 9 asam oleat akan membentuk fase lamelar *bilayer* asam lemak (Stano & Luisi, 2008).



[Sumber: Stano & Luisi, 2008]

Gambar 2.9. Struktur asam oleat pada berbagai kondisi pH

Bibliography

- American Pharmaceutical Association. (1994). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2 ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Barenholz, Y., & Crommelin, D. J. (1994). Liposomes as Pharmaceutical Dosage Forms. Dalam J. Swarbrick, & J. C. Boylan, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (Third ed., Vol. 9, hal. 1-39). New York: Marcel Dekker Inc.
- Biju, S. S., Talegaonkar, S., Mishra, P. R., & Khar, R. K. (2006). Vesicular Systems : An Overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* , 142-144.
- Connor, J., Yatvin, M. B., & Huang, L. (1984). pH-Sensitive Liposomes: Acid-Induced Liposome Fusion. *Proc. National Academy Science USA* , 81, 1715-1718.
- Martin, F. J. (1990). Pharmaceuticals Manufacturing of Liposomes. Dalam P. Tyle, *Specialized Drug Delivery Systems Manufacturing and Production Technology* (hal. 278-294). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Moffat, A. C., Osselton, D., & Brian, W. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. New York: Pharmaceutical Press.
- Ranade, V. V., & Hollinger, M. A. (2003). *Drug Delivery System Second Edition*. Florida, USA: CRC Press LLC.
- Rane, S., & Prabhakar, B. (2009). Influence of Liposome Composition on Paclitaxel Entrapment and pH Sensitivity of Liposome. *International Journal of PharmTech Research* , 1 (3), 914-917.
- Ropert, C. (1999). Liposomes as a Gene Delivery System. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , 32 (2), 163-169.

Schroeder, A., Kost, J., & Barenholz, Y. (2009). Ultrasound, liposomes, and drug delivery: principles for using ultrasound to control the release of drugs from liposomes. *Chemistry and Physics of Lipids* , 1-16.

Stano, P., & Luisi, P. L. (2008). Self-Reproduction of Micelles, Reverse Micelles, and Vesicles: Compartments Disclose a Geeneral Transformation Pattern. Dalam L. A. Liu, *Advanced in Planar Lipid Bilayers and Liposomes* (Vol. 7, hal. 236-238). Michigan, USA: Elsevier Inc.

Sweetman, S. C. (2009). *Martindale* (36 ed.). (S. C. Sweetman, Penyunt.) London: Pharmaceutical Press.

Williams, R. O., & Vaughn, J. M. (2007). Nanoparticle Engineering. Dalam J. Swarbrick, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (hal. 2393-2397). New York: Informa Health Care USA, Inc.

Wu, J., Zhao, X., & Lee, R. J. (2007). Lipid-Based Nanoparticulate Drug Delivery Systems. Dalam e. Deepak Thassu, *Nanoparticulate Drug Delivery Systems* (Vol. 166, hal. 89-92). New York: Informa Health Care USA, Inc.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Teknologi Farmasi Departamen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, dan *Institute of Human Virology and Cancer Biology* Universitas Indonesia, Salemba. Waktu penelitian dilakukan mulai dari bulan februari hingga bulan mei 2011.

3.2. Bahan

Fosfatidilkolin (Sigma Aldrich), kolesterol (Sigma Aldrich), asam oleat (diperoleh dari Brataco), spiramisin (PT. Kimia Farma), kloroform (Mallinckrodt), kalium klorida, asam klorida, kalium dihidrogen fosfat (Merck), natrium hidroksida (Mallinckrodt), *aquadest*, dan gas nitrogen.

3.3. Alat

Timbangan analitik, pH meter (Eutech), pengaduk magnetik, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu-UV 1800, Jepang), *rotary evaporator* (Janken-Kunkel IKA labortechnik), *vortex mixer* (Health H-VM-300), ultrasonikator (Branson 3200), *Scanning Electron Microscope* (LEO 420i), mikroskop konvokal (Olympus), Spektrofluoresensi (Perkin Elmer LS 55), *Particle Size Analyser* (Beckman Coulter LS coulter 100 Q dan DelsaNano), kamera digital (Kodak V1253), labu bulat, *glass beads*, desikator, *carbon tape conductivity*, mikropipet, dan peralatan gelas lainnya.

3.4. Metode Pelaksanaan

3.4.1. Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 7,4 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979)

Larutan dapar fosfat dibuat dengan mencampurkan 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 42,80 ml natrium hidroksida 0,2 N di dalam labu ukur 200,0 ml, kemudian dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit dengan *aquadest* hingga 200 ml. Sebelumnya, kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dibuat dengan menimbang 1,3609 gram serbuk kalium dihidrogen fosfat, larutkan dengan *aquadest* di dalam labu ukur 250,0 ml, dan dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit hingga batas labu ukur. Untuk pembuatan natrium hidroksida 0,2 N pelet natrium hidroksida ditimbang sebanyak 8,0 gram, kemudian dilarutkan dalam 1000 ml *aquadest*.

3.4.2. Pembuatan Liposom Sensitif pH

Liposom sensitif pH dibuat dengan menggunakan metode hidrasi lapis tipis. Lesitin, kolesterol, asam oleat, dan spiramisin ditimbang sesuai dengan yang tertera dalam formula dan dilarutkan dalam 40 ml kloroform. Larutan dalam kloroform tersebut kemudian dievaporasi menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu $\pm 62^{\circ}\text{C}$, kecepatan 150 rpm, dan kondisi vakum untuk menguapkan kloroformnya hingga terbentuk lapisan tipis, selama 2 jam. Lapisan tipis yang telah terbentuk tersebut kemudian dialiri gas nitrogen, dan didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, lapis tipis di dalam labu *evaporator* tersebut dihidrasi dengan 40 ml larutan dapar pH 7,4 sambil dikelupas dengan *glass beads* hingga terbentuk suspensi berwarna putih susu. Suspensi yang terbentuk kemudian di *vortex* selama 15 menit dan kembali disimpan di dalam vial selama 24 jam di dalam lemari pendingin.

Di bawah ini adalah formulasi pembuatan liposom yang digunakan untuk menghasilkan 40 ml suspensi liposom:

Tabel 3.1. Formula liposom sensitif pH

Bahan	Formula		
	F1	F2	F3
Spiramisin (mg)	320	320	320
Fosfatidilkolin (mg)	1200	1160	1120
Kolesterol (mg)	800	800	800
Asam oleat (μ l)	-	40	80

3.4.3. Pengecilan Ukuran Partikel dan Pemurnian Liposom

Suspensi liposom yang telah disimpan selama 24 jam kemudian dimasukkan ke dalam alat sonikator untuk memperkecil dan mensekarkan ukuran partikel liposom selama dua jam. Setelah itu, liposom dimurnikan dengan metode dialisis selama 24 jam.

Untuk dialisis, 6 ml sampel liposom dimasukkan ke dalam vial, kemudian mulut vial ditutup dengan membran dialisis selofan dengan cara diikat. Sisi di sekitar mulut vial kemudian direkatkan dengan isolasi kabel untuk mencegah medium reseptor maupun liposom bocor melalui samping mulut vial. Vial tersebut kemudian diikat pada saringan kawat dengan posisi mulut vial menghadap ke bawah. Spin bar dimasukkan dalam gelas piala dan diletakkan di atas pengaduk magnetik. Setelah itu, 100 ml larutan dapar fosfat pH 7,4 sebagai reseptor dialisis dimasukkan ke dalam gelas piala tersebut. Saringan kawat yang telah dirangkai dengan vial kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala yang telah berisi 100 ml larutan dapar fosfat 100 ml tersebut.

Pada setiap jam, dan setiap 15 menit untuk jam pertama, dapar fosfat pH 7,4 di dalam medium (sebagai reseptor) dipipet sebanyak 10,0 ml dan ditampung dalam vial. Setiap kali pipet dilakukan, 10,0 ml dapar fosfat pH 7,4 dari luar ditambahkan ke dalam beaker 100 ml untuk menggantikan larutan yang telah diambil. Dengan demikian volume dapar fosfat pH 7,4 dalam beaker akan konstan. Liposom hasil sampling diukur serapannya untuk menentukan efisiensi penyerapan liposom. Liposom yang telah dimurnikan disimpan dalam vial dalam lemari pendingin. (Shivhare, Ambulkar, Mathur, Bhusari, & Godbole, 2009; Inui, Matsuda, Yamamouchi, & HIRAMA, 1991).

3.4.4. Pembuatan Larutan Dapar Klorida pH 2, Dapar Fosfat pH 5,5 dan pH 8 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979)

3.4.4.1. Larutan Dapar Klorida pH 2

Larutan dapar klorida pH 2 dibuat dengan mencampurkan 50 ml kalium klorida 0,2 M dengan 13,0 ml asam klorida 0,2 N, di dalam labu ukur 200,0 ml, kemudian dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit dengan aquadest hingga 200 ml.

3.4.4.2. Larutan Dapar Fosfat pH 5,5

Larutan dapar fosfat pH 5,5 dibuat dengan mencampurkan 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 15 ml natrium hidroksida 0,2 N di dalam labu ukur 200,0 ml, kemudian dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit dengan aquadest hingga 200 ml.

3.4.4.3. Larutan Dapar Fosfat pH 8

Larutan dapar fosfat pH 8 dibuat dengan mencampurkan 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 46,1 ml natrium hidroksida 0,2 N di dalam labu

ukur 200,0 ml, kemudian dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit dengan aquadest hingga 200 ml.

3.4.5. Pembuatan Spektrum Serapan dan Kurva Kalibrasi Spiramisin dalam Larutan Dapar Klorida pH 2; Dapar Fosfat pH 5,5; pH 7,4; dan pH 8.

Spiramisin ditimbang sebanyak 100,0 mg, kemudian dilarutkan ke dalam larutan dapar dalam labu ukur 100,0 ml. Setelah itu, volume larutan dicukupkan dengan pelarut tersebut sedikit demi sedikit hingga tanda batas labu ukur. Larutan spiramisin dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet sebanyak 10,0 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 ml, dan dicukupkan volumenya dengan larutan dapar. Dari larutan spiramisin 100 ppm tersebut dibuat 10 titik pengenceran untuk pembuatan kurva kalibrasi.

Larutan dengan pengenceran 10 ppm dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-VIS, dan ditentukan panjang gelombang yang menghasilkan serapan maksimum. Setelah itu, larutan dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14, 18, 20, 22, 24, dan 26 ppm yang dibuat dari larutan spiramisin 100 ppm diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya. Hasil pengukuran tersebut dibuat kurva kalibrasi yang menghubungkan antara konsentrasi larutan dan serapan, lalu didapatkan persamaan kurva kalibrasinya.

3.4.6. Evaluasi Liposom Sensitif pH

3.4.6.1. Morfologi

Morfologi liposom dievaluasi dengan melihat bentuk fisik globul liposom menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) perbesaran digital 2000x dan 4000x dan mikroskop konvokal dengan perbesaran 60x7. Untuk penggunaan SEM, sampel dikeringkan terlebih dahulu dengan diteteskan pada *carbon tape conductivity* berukuran 3 mm x 10 cm, kemudian disimpan dalam desikator selama satu minggu. Preparasi ini perlu dilakukan karena *Scanning Electron*

Universitas Indonesia

Microscopy (SEM) tidak dapat menganalisa sampel yang mengandung air. Untuk menggunakan mikroskop konvokal, sebelumnya panjang gelombang emisi dan eksitasi sampel diukur dengan mikroskop floresensi terlebih dahulu untuk menentukan lampu floresensi yang akan digunakan.

3.4.6.2. Distribusi Ukuran Partikel Liposom

Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan baik untuk liposom sebelum diultrasonikasi maupun setelah diultrasonikasi. Distribusi ukuran partikel ditetapkan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) yang memiliki kemampuan batas pengukuran 400 nm. Larutan *aquadest* dimasukkan ke dalam *fluid tank* sebagai *baseline*, kemudian sampel dimasukkan ke dalam *fluid tank* tetes demi tetes hingga konsentrasi yang mencukupi, setelah itu akan terukur ukuran partikel globul-globul liposom.

3.4.6.3. Efisiensi Penjerapan Spiramisin Oleh Liposom

Liposom yang telah diultrasonikasi dimurnikan dengan cara dialisis selama 24 jam menggunakan medium 100 ml larutan dapar fosfat pH 7,4. Pada satu jam pertama, larutan dalam medium dipipet 10,0 ml untuk diukur serapannya dan setelah satu jam larutan dipipet setiap jam untuk diukur juga serapannya. Obat yang larut dalam medium merupakan obat yang tidak terjerap oleh liposom (terdialisis). Oleh karena itu untuk mengetahui berat akumulatif obat yang terdialisis, hasil pengukuran serapan dimasukkan ke dalam rumus berikut:

$$W_t = \frac{(y_t - a) \times m}{b \times 1000} \quad (3.1)$$

$$W_n = \frac{(y_n - a) \times m}{b \times 1000} + \dots + W_t \quad (3.2)$$

Dalam rumus tersebut, W_t adalah jumlah (mg) obat yang terdialisis dari sampel waktu pertama, Y_t adalah serapan sampel, m adalah volume medium reseptor, a dan b didapat dari persamaan kurva kalibrasi dan 1000 adalah faktor konversi dari μg ke mg. Sedangkan, W_n adalah berat akumulatif sampel jam berikutnya, Y_n adalah serapan sampel, dan s adalah volume sampel, seterusnya hingga jam terakhir pengambilan sampel. Setelah itu, efisiensi penjerapan spiramisin oleh liposom dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% EP = \frac{C_{\text{terjerap}}}{C_t} \times 100\% \quad (3.3)$$

Daya jerap spiramisin oleh liposom diukur dengan membandingkan konsentrasi spiramisin yang terjerap (C_{terjerap}) dengan konsentrasi spiramisin total (C_t). Konsentrasi spiramisin yang terjerap diperoleh dari hasil pengurangan konsentrasi spiramisin yang terdapat dalam formula dengan konsentrasi akumulatif spiramisin yang terdialisis.

3.4.6.4. Uji Sensitivitas Liposom pada Berbagai Kondisi pH

Uji sensitivitas liposom dilakukan dengan melakukan pengukuran pelepasan obat pada tiga kondisi pH yaitu pH 2; pH 5,5; dan pH 8. Volume sampel yang digunakan adalah 1,0 ml liposom hasil pemurnian. Sampel tersebut kemudian dicampur dengan dengan masing-masing 2,0 ml larutan dapar pH 2; pH 5,5; dan pH 8. Cara uji yang digunakan adalah modifikasi dari uji sensitivitas pH yang dilakukan oleh Rane & Prabhakar (2009), dimana sampel liposom tidak diinkubasi dulu selama 15 menit dengan suhu 37°C , tetapi sampel langsung didialisis selama delapan jam pada kondisi suhu tersebut.

Masing-masing campuran larutan kemudian didialisis kembali dengan cara yang sama seperti pemurnian liposom, tetapi menggunakan medium 100 ml masing-masing larutan dapar pH 2; pH 5,5; dan pH 8 tersebut. Larutan pada medium dipipet sebanyak 10,0 setiap jam dan setiap 15 menit pada satu jam pertama, lalu dimasukkan ke dalam vial. Sampel pada vial kemudian diukur

serapannya dan hasil pengukuran dimasukkan kembali ke dalam rumus akumulatif seperti pada dialisis, untuk mengetahui persentase obat yang dilepaskan oleh liposom.



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pembuatan Liposom Sensitif pH

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pembuatan liposom sensitif pH dengan bahan penyusun liposom yang utama digunakan adalah fosfatidilkolin dan kolesterol. Pada penelitian ini ditambahkan asam oleat ke dalam formula yang diharapkan memberikan sifat sensitif pH. Ada tiga formula yang digunakan yaitu tanpa penambahan asam oleat, dengan penambahan 0,16 mol dan 0,32 mol asam oleat, dimana konsentrasi asam oleat yang ditambahkan setara dengan konsentrasi fosfatidilkolin yang dikurangi. Hasil perhitungan perbandingan mol tersebut kemudian dikonversi menjadi volume, sehingga didapat jumlah asam oleat yang ditambahkan ke dalam formula adalah 40 μ l dan 80 μ l. Metode pembuatan liposom yang digunakan adalah metode hidrasi lapis tipis yang merupakan metode umum yang dipakai untuk pembuatan liposom. Metode ini terdiri dari dua tahap yaitu pembentukan lapis tipis lipid dan hidrasi lapis tipis oleh pelarut, yaitu larutan dapar fosfat pH 7,4.

Berdasarkan percobaan pendahuluan, didapatkan kondisi optimum yang dibutuhkan dalam penggunaan alat *rotary evaporator* pada saat pembuatan lapis tipis maupun proses hidrasi, agar dapat terbentuk suspensi liposom yang baik. Pada percobaan pendahuluan, liposom dibuat dalam skala kecil, yang menghasilkan 5 ml volume suspensi liposom. Kondisi penggunaan alat *rotary evaporator* yang dibutuhkan adalah kecepatan 150 rpm, suhu $\pm 62^{\circ}\text{C}$, dengan waktu 60 menit. Namun, setelah volume diperbesar menjadi 40 ml, waktu yang dibutuhkan untuk menguapkan kloroform dan menghidrasi lapis tipis lebih lama yaitu 120. Temperatur yang digunakan adalah $\pm 62^{\circ}\text{C}$ karena temperatur tersebut di atas titik leleh lipid.

Pada saat pembuatan lapis tipis liposom, bahan-bahan pembentuk liposom dan zat aktif yang digunakan sebagai model obat yaitu spiramisin, dilarutkan

bersamaan dalam kloroform. Spiramisin dilarutkan dalam kloroform, bersama dengan lipid karena spiramisin larut dalam air dengan perbandingan 1:50 tetapi sangat mudah larut dalam pelarut organik. Pada pembentukan lapis tipis, dibutuhkan kondisi vakum untuk membantu mempercepat penguapan dan pembentukan lapis tipis. Lapis tipis harus terbentuk secara rata, oleh karena itu pada saat awal melakukan proses pembentukan lapis tipis, kecepatan *rotary evaporator* yang digunakan dinaikkan secara bertahap tidak langsung menggunakan 150 rpm. Selain itu, pompa vakum juga tidak dinyalakan sejak awal pembuatan agar kloroform tidak langsung habis menguap. Lapis tipis yang terbentuk disimpan dengan kondisi vakum selama 24 jam untuk mencegah lipid teroksidasi dan menyempurnakan penguapan kloroform, sehingga tidak mengganggu proses hidrasi.

Pada saat proses hidrasi, pengelupasan lapisan tipis lipid dibantu dengan memasukkan *glass beads* ke dalam labu untuk membantu mengangkat kerak lapisan tipis yang tebal pada dasar tabung, sehingga lapisan tipis tercampur sempurna dengan larutan dapar. Setelah lapis tipis dihidrasi, suspensi liposom juga disimpan selama 24 jam, di dalam lemari pendingin, untuk menyempurnakan pembentukan dan menguatkan globul-globul liposom.

Secara fisik, hasil yang terbentuk adalah suspensi yang berwarna putih seperti susu dengan bau lesitin. Pada formula 2 terlihat suspensi berwarna kuning pucat dan pada formula 3 warna kuningnya lebih kuat, yang disebabkan oleh meningkatnya jumlah asam oleat yang ditambahkan. Liposom formula 1 mulai menunjukkan sedikit pemisahan pada minggu ke-4 penyimpanan, sedangkan formula 2 dan 3 lebih stabil. Hal tersebut menunjukkan bahwa asam oleat meningkatkan kestabilan fisik suspensi liposom. Selain mempengaruhi kestabilan fisik, penambahan asam oleat juga dapat meningkatkan viskositas dari suspensi, yang mulai terlihat pada saat proses hidrasi dari lapis tipis liposom dimana suspensi yang terbentuk lebih kental.

4.2. Pengecilan Ukuran Partikel dan Pemurnian Liposom

Setelah liposom didiamkan selama 24 jam, dilakukan pengecilan ukuran partikel dan pemurnian liposom. Pengecilan ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan alat ultrasonikator, setelah itu distribusi ukuran partikel dihitung dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Sedangkan, pemurnian liposom dilakukan dengan metode dialisis karena metode tersebut cukup efektif untuk digunakan.

Pada percobaan pendahuluan pengecilan ukuran partikel, dilakukan orientasi terhadap tiga perlakuan yaitu sebelum disonikasi, sonikasi 60 menit, dan 120 menit. Secara fisik tidak ada perbedaan antara liposom sebelum disonikasi dan setelah sonikasi. Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel dengan PSA menunjukkan penurunan rata-rata ukuran partikel dengan penambahan waktu, meskipun perubahannya tidak signifikan, yaitu 23,25 μm ; 20,99 μm ; dan 19,21 μm . Oleh karena itu, untuk percobaan selanjutnya, waktu yang dipilih untuk pengecilan ukuran partikel adalah 120 menit.

Pemurnian liposom dilakukan dengan cara dialisis untuk menghilangkan spiramisin yang tidak terjerap oleh liposom, dengan menggunakan medium larutan dapar fosfat pH 7,4. Pada percobaan pendahuluan, dialisis dilakukan dengan menggunakan alat dialisis putar selama enam jam, dengan pengambilan sampel setiap satu jam, kemudian sampel diukur serapannya dengan alat spektrofotometri UV-Vis. Setelah dilakukan pengukuran serapan dari sampel yang telah diencerkan, serapan sampel jam pertama hingga ke-6 lebih dari 2, hal tersebut kemungkinan disebabkan terjadinya kebocoran membran dialisis karena tertusuk jarum *syringe* pada saat pengambilan sampel dari kompartemen reseptor, ataupun saat memasukkan liposom ke kompartemen donor. Selain itu, perbandingan jumlah zat aktif yang dimasukkan ke dalam formulasi dengan jumlah lipid juga terlalu banyak.

Setelah itu, dengan demikian, dilakukan modifikasi cara dialisis dan pengurangan zat aktif menjadi $\frac{1}{4}$ bagian dari jumlah zat aktif awal. Dialisis dilakukan dengan menggunakan *magnetic stirrer*, dengan volume medium sebagai reseptor adalah 100 ml dan volume sampel yang diambil adalah 10,0 ml, dimana

Universitas Indonesia

vial liposom diletakkan di dalam *beker glass* yang berisi medium. Hasil pengukuran serapan menunjukkan grafik serapan mulai datar pada jam ke 21 hingga 24, yang kemungkinan menunjukkan tidak ada lagi spiramisin yang terdialisis, sehingga konsentrasi spiramisin yang terukur pada hasil sampling tetap. Dengan demikian, dialisis selanjutnya dilakukan selama 24 jam dengan pengambilan sampel setiap 1 jam dan setiap 15 menit pada 1 jam pertama.

4.3. Pembuatan kurva kalibrasi spiramisin

4.3.1. Dalam larutan dapar fosfat pH 7,4

Larutan spiramisin dalam dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 10 µg/ml menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 232,2 nm. Kurva kalibrasi spiramisin dalam dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 6, 10, 14, 18, 20, dan 26 µg/ml kemudian dibuat. Persamaan kurva kalibrasi yang didapatkan adalah $y = 0,0337x - 0,0006$ dengan $r = 0,9983$.

4.3.2. Dalam larutan dapar klorida pH 2

Larutan spiramisin dalam dapar klorida pH 2 dengan konsentrasi 10 µg/ml menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 232,2 nm. Kurva kalibrasi spiramisin dalam dapar klorida pH 2 dengan konsentrasi 8, 12, 16, 20, 24, dan 28 µg/ml kemudian dibuat. Persamaan kurva kalibrasi yang didapatkan adalah $y = 0,0296x + 0,0100$ dengan $r = 0,9996$.

4.3.3. Dalam larutan dapar fosfat pH 5,5

Larutan spiramisin dalam dapar fosfat pH 5,5 dengan konsentrasi 10 µg/ml menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 232,2 nm. Kemudian dibuat kurva kalibrasi spiramisin dalam dapar fosfat pH 5,5 dengan konsentrasi 8, 10, 12,

14, 16, 18, dan 20 µg/ml kemudian dibuat. Persamaan kurva kalibrasi yang didapatkan adalah $y = 0,0318x - 0,0011$ dengan $r = 0,9989$.

4.3.4. Dalam larutan dapar fosfat pH 8

Larutan spiramisin dalam dapar fosfat pH 8 dengan konsentrasi 10 µg/ml menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 232,2 nm. Kemudian, dibuat kurva kalibrasi spiramisin dalam dapar fosfat pH 8 dengan konsentrasi 8, 10, 12, 14, 16, 18, dan 20 µg/ml. Persamaan kurva kalibrasi yang didapatkan adalah $y = 0,0319x - 0,0213$ dengan $r = 0,9991$.

4.4. Evaluasi Liposom Sensitif pH

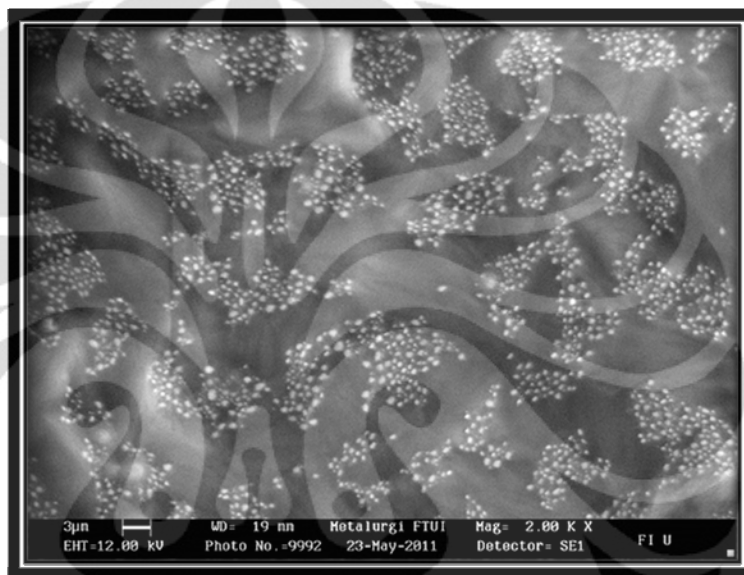
4.4.1. Morfologi

Evaluasi morfologi liposom dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan mikroskop konfokal. Kendala yang dihadapi pada pengukuran menggunakan SEM adalah sampel yang berbentuk suspensi, karena kondisi sampel yang diperlukan agar bisa dianalisis menggunakan SEM adalah sampel berbentuk padatan. Oleh karena itu, dicoba cara *freeze dry* untuk mengeringkan suspensi liposom, yang diharapkan tidak merusak globul liposom karena kondisi pengeringan menggunakan suhu dingin. Hasil evaluasi morfologi liposom yang telah dikeringkan dengan cara *freeze dry* tidak memperlihatkan adanya globul-globul liposom. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh rusaknya globul liposom karena tekanan vakum saat proses pengeringan.

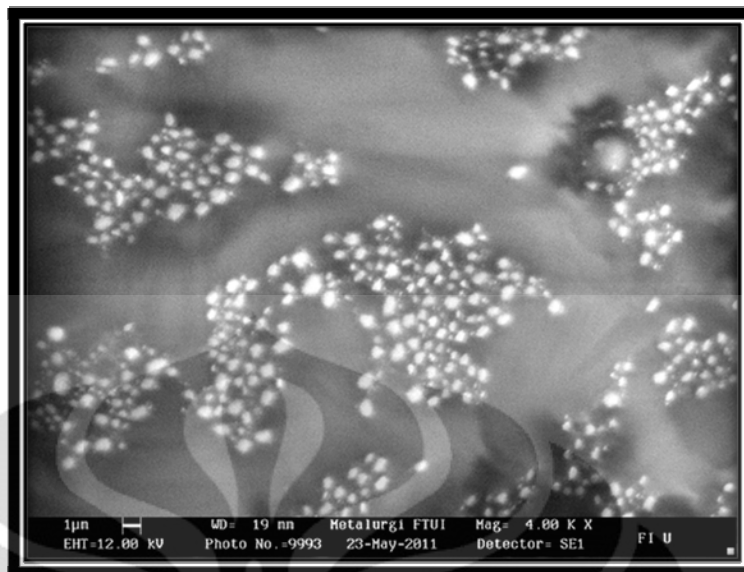
Berdasarkan data hasil SEM tersebut, dicoba alternatif cara pengeringan lain dan alternatif alat untuk mengevaluasi morfologi dari liposom yang dapat menganalisis partikel dengan ukuran mikrometer hingga nanometer dan menggunakan sampel cair. Maka, pengeringan suspensi liposom dilakukan dengan cara meneteskan suspensi liposom pada *carbon tape conductivity* dan

Universitas Indonesia

disimpan di dalam desikator selama satu minggu. Hasil yang diperoleh dari evaluasi sampel menggunakan SEM dengan *digital zoom* 2000 dan 4000 kali menunjukkan terbentuknya globul-globul liposom di dalam suspensi. Adanya beberapa globul yang lebih besar dari yang lainnya disebabkan oleh bergabungnya beberapa globul-globul liposom. Contoh gambar hasil pengukuran dengan SEM dapat dilihat pada gambar 4.1. dan gambar 4.2. di bawah ini:

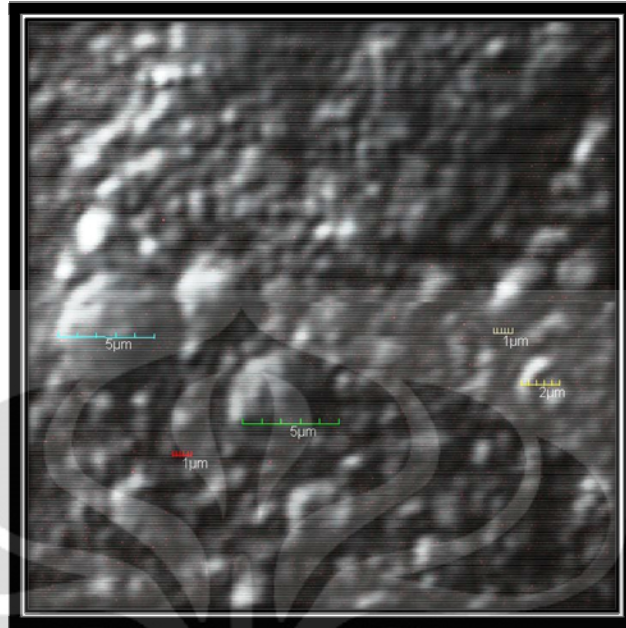


Gambar 4.1. Morfologi liposom formula 1 hasil pengukuran dengan SEM (*digital zoom 2000x*)



Gambar 4.2. Morfologi liposom formula 1 hasil pengukuran dengan SEM
(*digital zoom 4000x*)

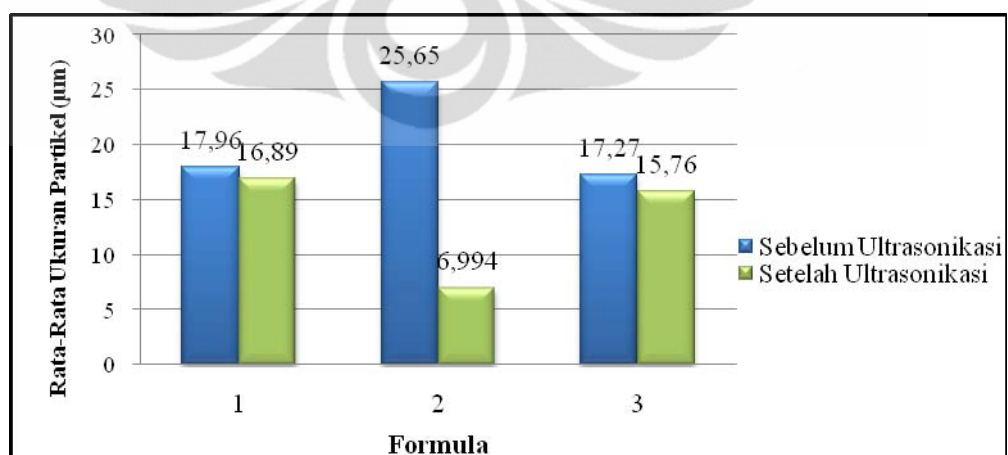
Hasil pengukuran dengan SEM di atas didukung oleh hasil evaluasi morfologi menggunakan mikroskop konvokal. Hasil evaluasi dengan mikroskop konvokal diharapkan dapat memperlihatkan globul-globul liposom dengan lebih jelas dan dapat terlihat lapisan-lapisan dalam liposom. Namun, terdapat kendala lain dalam penggunaan mikroskop konvokal dimana hasil pengukuran panjang gelombang eksitasi dan panjang gelombang emisi terlalu tinggi, yaitu 258,1 nm dan 468,3 nm, sedangkan jenis lampu yang digunakan untuk mikroskop konvokal tidak dapat mendeteksi panjang gelombang tersebut. Oleh karena itu, digunakan panjang gelombang yang *peaknya* lebih rendah untuk mengevaluasi sampel. Sehingga, hasil evaluasi tidak memperlihatkan secara jelas floresensi dari globul liposom, juga tidak dapat memperlihatkan lapisan-lapisan liposom, hanya dapat terlihat bentuk-bentuk bulat dari globul. Namun, data ini tetap dapat mendukung data hasil evaluasi dengan menggunakan SEM dimana terbentuknya globul-globul liposom dalam suspensi. Contoh hasil pengukuran dengan mikroskop konvokal dapat terlihat pada gambar 4.3. di bawah ini:



Gambar 4.3. Morfologi liposom formula 2 hasil evaluasi dengan mikroskop konvokal (perbesaran 60x7).

4.4.2. Distribusi Ukuran Partikel

Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel dapat dilihat pada gambar di bawah ini:

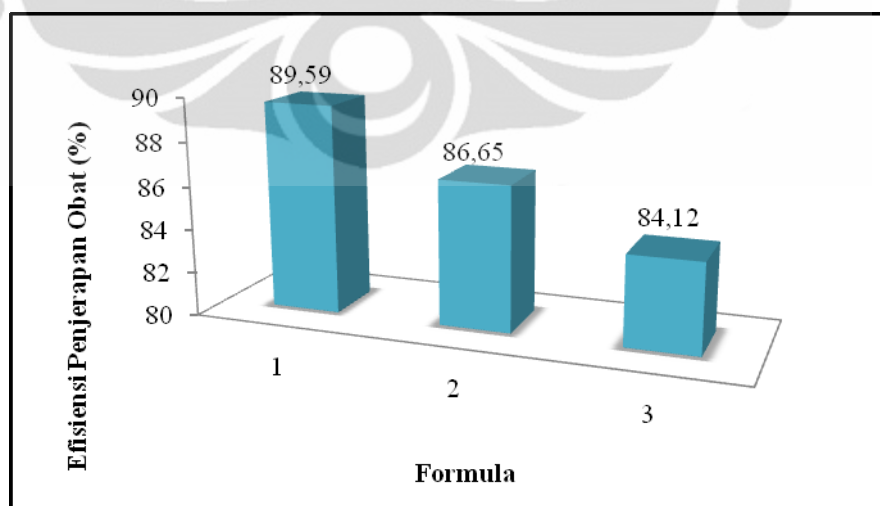


Gambar 4.4. Diagram rata-rata distribusi ukuran partikel liposom hasil pengukuran dengan *Particle Size Analyzer*

Hasil pengukuran tersebut menunjukkan partikel liposom sebelum disonikasi rata-rata berukuran sekitar 17 μm . Setelah dilakukan pengecilan ukuran partikel selama 2 jam dengan sonikasi, partikel berukuran rata-rata sekitar 15-16 μm . Dengan demikian, adanya penambahan asam oleat tidak mempengaruhi ukuran partikel liposom. Namun, terdapat perbedaan yang cukup signifikan pada formula 2. Rata-rata ukuran partikel sebelum disonikasi adalah 25 μm yang disebabkan terjadinya penggabungan (penggumpalan) globul-globul liposom ataupun kurang maksimalnya preparasi sampel. Sedangkan, ukuran partikel yang sangat kecil setelah disonikasi, yaitu 6 μm kemungkinan disebabkan oleh tidak homogenya sampel yang terukur.

4.4.3. Persen Penjerapan Obat oleh Liposom.

Persen penjerapan dihitung dari hasil persentase akumulatif spiramisin yang terdialisis selama 24 jam, yang menunjukkan jumlah obat yang tidak terjerap oleh liposom. Hasil evaluasi persen penjerapan yang dapat terlihat pada gambar di bawah ini menunjukkan terjadi sedikit penurunan penjerapan spiramisin oleh liposom dari formula 1 ke formula 3, yaitu 89,59%; 86,65%; dan 84,12%, meskipun penurunannya tidak signifikan.



Gambar 4.5. Diagram persentase efisiensi penjerapan obat oleh liposom

Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh berkurangnya jumlah fosfatidilkolin sebagai bahan utama pembentuk liposom karena meningkatnya jumlah asam oleat yang ditambahkan menggantikan fosfatidilkolin tersebut. Dengan demikian, pembentukan liposom kurang sempurna, sehingga persentase obat yang dapat dijerap lebih kecil.

Dikarenakan spiramisin dilarutkan bersama dengan lipid penyusun liposom, maka spiramisin terjerap di bagian *lipid bilayer* dari liposom. Sehingga, spiramisin yang tidak terjerap dapat terikat di antara globul-globul liposom yang saling bergabung, yang dapat mempengaruhi besarnya efisiensi penjerapan spiramisin oleh liposom. Hal tersebut yang juga menyebabkan waktu dialisis yang lama dan grafik persentase terdialisis yang belum datar yang menunjukkan zat aktif belum terdialisis sempurna.

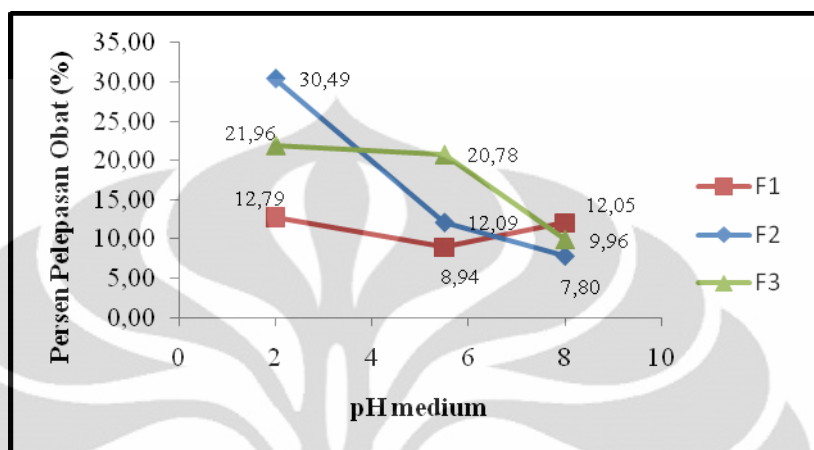
4.4.4. Uji Sensitivitas Terhadap Berbagai Kondisi pH

Evaluasi sensitivitas liposom pada pH dilakukan pada tiga kondisi pH yaitu pH 2; pH 5,5; dan pH 8. Dengan adanya penambahan asam oleat, liposom diharapkan stabil pada kondisi pH 8 (pH basa) dan sensitif pada pH asam yaitu pH 2 dan pH 5,5. Pengujian juga dilakukan dengan cara yang sama seperti dialisis, hanya berbeda pada larutan pH yang digunakan sebagai medium dialisis. Dialisis dilakukan pada suhu 37°C yang dianalogikan sebagai suhu tubuh. Berdasarkan percobaan pendahuluan, didapatkan waktu evaluasi yang dibutuhkan yaitu selama delapan jam, dimana grafik pengukuran serapan mulai mendatar pada jam ke-6. Hal tersebut menunjukkan tidak ada lagi spiramisin yang lepas dari liposom dan terdialisis. Kesensitivan liposom pada pH terukur dari persentase obat yang dilepaskan oleh liposom.

Hasil perbandingan uji sensitivitas pH pada formula 1, 2, dan 3 menunjukkan bahwa adanya penambahan asam oleat pada formula 2 dan 3 dapat meningkatkan kestabilan liposom dengan meningkatnya pH dari pH asam ke pH basa. Pecahnya liposom formula 2 dan formula 3 pada kondisi medium pH asam disebabkan oleh terprotonasinya asam oleat pada pH di bawah 7, tetapi pada pH 7-9 asam oleat dapat membentuk lamelar lipid *bilayer*. Hal tersebut ditunjukkan

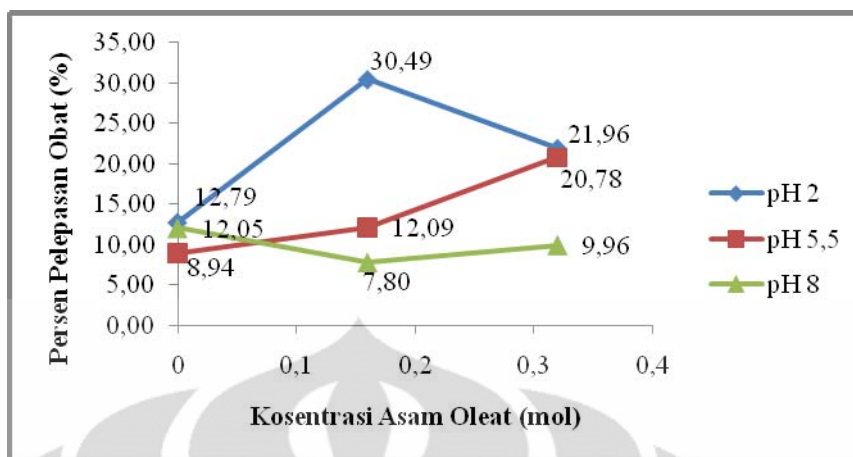
Universitas Indonesia

dengan menurunnya grafik persentase pelepasan obat dari pH 2; pH 5,5; ke pH 8, yang dapat dilihat pada grafik gambar 4.6.



Gambar 1.6. Grafik hubungan pH medium dengan persentase pelepasan obat selama 8 jam dari ketiga formula liposom.

Hasil uji pada pH 2 formula 2 dan formula 3 menunjukkan persentase pelepasan yang sangat tinggi yang disebabkan oleh kondisi lingkungan yang sangat asam, sehingga liposom pun rusak dan banyak melepaskan zat aktifnya. Namun, pada formula 1 tidak terlihat sifat sensitivitas pH yang sesuai. Jika dibandingkan berdasarkan banyaknya asam oleat yang ditambahkan ke dalam formula, hasil uji pada pH 5,5 memperlihatkan peningkatan pelepasan obat dari formula 1 ke formula 3. Hal tersebut menunjukkan sensitivitas liposom pada pH 5,5 seperti yang terlihat pada grafik gambar 4.7.



Gambar 4.7. Grafik hubungan konsentrasi asam oleat yang ditambahkan dengan persentase pelepasan obat selama 8 jam dari liposom pada tiga kondisi pH.

Hasil uji pada pH 2 juga menunjukkan peningkatan persen pelepasan obat dari formula 1 ke formula 2 tetapi terjadi penurunan pada formula 3. Hasil uji pada pH 8 memperlihatkan penurunan pelepasan obat dari formula 1 ke formula 2 yang menunjukkan peningkatan kestabilan liposom pada pH 8, tetapi terjadi peningkatan pelepasan obat pada formula 3. Adanya ketidaksesuaian hasil uji pada formula 3 kemungkinan disebabkan liposom tidak terbentuk secara sempurna karena penurunan konsentrasi fosfatidilkolin, sehingga tidak memperlihatkan profil sensitivitas pH yang sesuai. Oleh karena itu, tidak dapat terlihat efek yang linier antara penambahan konsentrasi asam oleat dari formula 1 ke formula 3 dengan sensitivitas liposom di pH asam dan stabilitasnya di pH basa.

Secara fisik, suspensi hasil uji sensitivitas pH pada pH 2 dan pH 5,5 terlihat pecah menjadi larutan berwarna putih keruh dengan endapan gumpalan-gumpalan lipid dan zat aktif. Hasil uji pada pH 2 larutan terlihat lebih jernih dan lebih banyak endapan. Sedangkan pada pH 8 suspensi tetap stabil setelah mengalami uji sensitivitas pH. Hal tersebut menunjukkan liposom stabil pada pH 8 (pH basa) dan tidak stabil pada pH 2 dan pH 5,5 (pH asam), meskipun secara fisik tidak terlihat perbedaan yang signifikan dari formula 1 hingga formula 3.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Penambahan asam oleat dapat meningkatkan sensitivitas liposom pada kondisi pH asam dan meningkatkan kestabilannya pada pH basa. Namun, konsentrasi asam oleat yang ditambahkan tidak berpengaruh secara linier terhadap persentase pelepasan obat dari liposom dalam berbagai kondisi pH. Penambahan asam oleat yang disertai dengan pengurangan jumlah fosfatidilkolin sebagai bahan utama pembentuk liposom, dapat menurunkan efisiensi penyerapan spiramisin oleh liposom.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan pencarian dan optimasi metode pencucian liposom yang lebih efektif dan efisien.
2. Dilakukan optimasi terhadap persentase asam oleat yang ditambahkan ke dalam formula, juga komposisi bahan-bahan penyusun liposom untuk menghasilkan liposom yang stabil terhadap pH netral dan basa, dan sensitif terhadap pH asam.
3. Perlu dilakukan orientasi dan optimasi terhadap waktu pelepasan obat yang optimum pada uji sensitivitas pH.

DAFTAR ACUAN

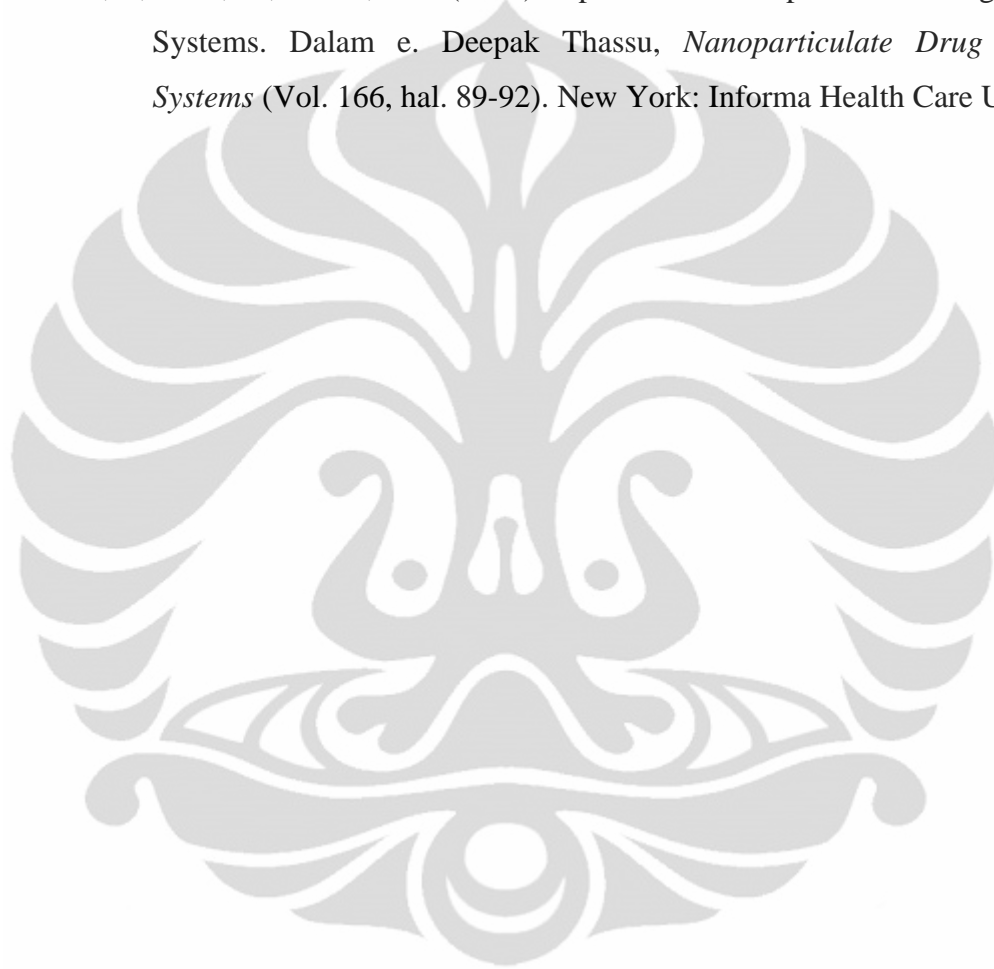
- American Pharmaceutical Association. (1994). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (Second ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Anonim. *Cholesterol*. Diunduh 30 Desember 2010, dari Chemicalland21: <http://www.chemicalland21.com/lifescience/phar/CHOLESTEROL.htm>
- Balamuralidhara, V., Pramodkumar, T. M., Srujana, N., Venkatesh, M., Gupta, N. V., Krishna, K. L., et al. (2011). pH Sensitive Drug Delivery Systems: A review. *American Journal of Drug Discovery and Development* , 1 (1), 24-48.
- Barenholz, Y., & Crommelin, D. J. (1994). Liposomes as Pharmaceutical Dosage Forms. Dalam J. Swarbrick, & J. C. Boylan, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (Third ed., Vol. 9). New York: Marcel Dekker Inc.
- Biju, S. S., Talegaonkar, S., Mishra, P. R., & Khar, R. K. (2006). Vesicular Systems : An Overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* , 142-144.
- Christie, W. W. (2010). *Phosphatidylcholine and Related Lipids*. Diunduh 4 Januari 2011 dari <http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/pc.index.htm>.
- Connor, J., Yatvin, M. B., & Huang, L. (1984). pH-Sensitive Liposomes: Acid-Induced Liposome Fusion. *Proceeding National Academy Science USA* , 81, 1715-1718.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Encyclopedia Britannica. (2007). Liposome In Encyclopædia Britannica. Diunduh 07 Januari 2011, dari: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/342910/liposome>
- Huang, L., & Zhou, X. (1988). Cytoplasmic Delivery of Proteins and DNA by pH-Sensitive Liposomes. *Protein Traffic in Parasites and Mammalian CellsWorkshop*. Nairobi: The International Laboratory for Research on Animal Diseases.

- Inui, Y., Matsuda, H., Ueda, Y., Yamamouchi, K., & Hirama, M. (1991). *Patent No. 90119235.1*. Osaka.
- Kaparissides, C., & et.al. (2006). Recent Advance in Novel Drug Delivery Systems. *Journal of Nanotechnology Online* .
- Martin, F. J. (1990). Pharmaceuticals Manufacturing of Liposomes. Dalam P. Tyle, *Specialized Drug Delivery Systems Manufacturing and Production Technology*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Mayer, L. D., L., L. C., Bally, M. B., Miltlines, G. N., Ginsberg, R. S., & Cullis, P. R. (1990). Characterization of Liposomal Systems Containing Doxorubicin Entrapped in Response to pH Gradients. *Biochemica et Biophysica Acta* (1025), 143-151.
- Ranade, V. V., & Hollinger, M. A. (2003). *Drug Delivery System Second Edition*. Florida, USA: CRC Press LLC.
- Rane, S., & Prabhakar, B. (2009). Influence of Liposome Composition on Paclitaxel Entrapment and pH Sensitivity of Liposome. *International Journal of PharmTech Research* , 1 (3), 914-917.
- Roport, C. (1999). Liposomes as a Gene Delivery System. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , 32 (2), 163-169.
- Schroeder, A., Kost, J., & Barenholz, Y. (2009). Ultrasound, liposomes, and drug delivery: principles for using ultrasound to control the release of drugs from liposomes. *Chemistry and Physics of Lipids* , 1-16.
- Shen, Y., Huadong, T., Radosz, M., Kirk., E. V., Murdoch, W. J. (2008). pH-Responsive Nanoparticles for Cancer Drug Delivery. Dalam Kewal K. Jain (Ed.), *Methods in Molecular Biology: Drug Delivery Systems* (Vol. 437). New York: Humana Press.
- Shivhare, U. D., Ambulkar, D., Mathur, V. B., Bhusari, K. P., & Godbole, M. (2009). Formulation and Evaluation of Pentoxifylline Liposome Formulation. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* , 4 (4), 857-862.
- Sweetman, S. C. (2009). *Martindale* (36 ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Stano, P., & Luisi, P. L. (2008). Self-Reproduction of Micelles, Reverse Micelles, and Vesicles: Compartments Disclose a Geeneral Transformation Pattern.

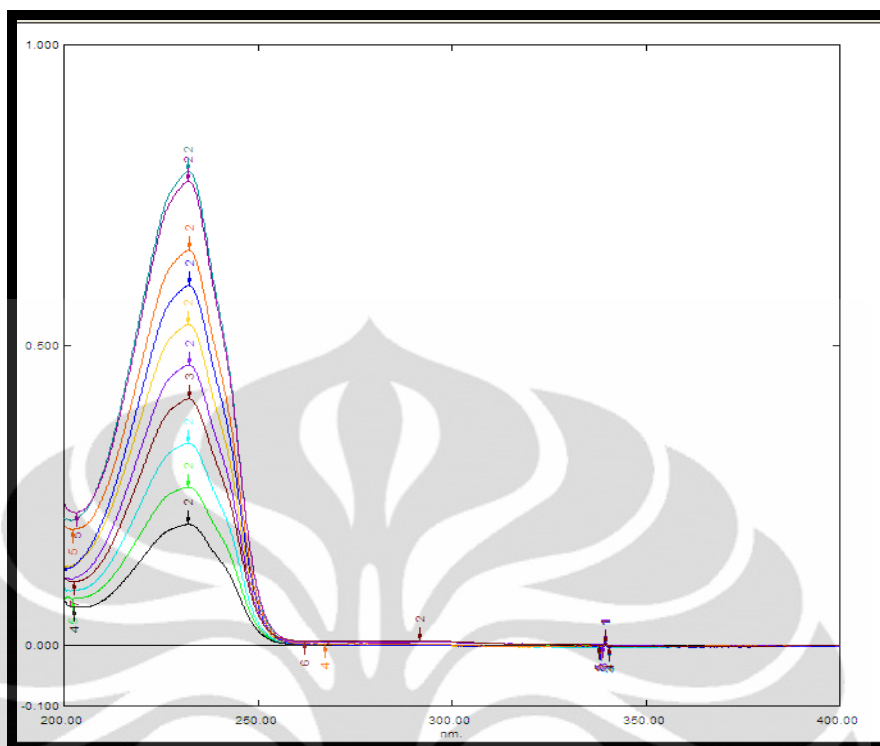
Dalam L. A. Liu (Ed.), *Advanced in Planar Lipid Bilayers and Liposomes* (Vol. 7, hal. 236-238). Michigan, USA: Elsevier Inc.

Williams, R. O., & Vaughn, J. M. (2007). Nanoparticle Engineering. Dalam J. Swarbrick, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York: Informa Health Care USA, Inc.

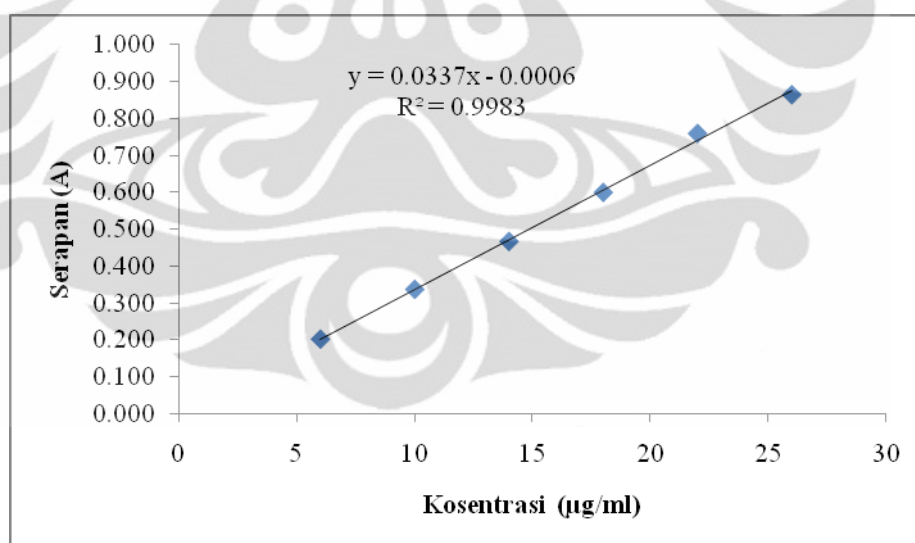
Wu, J., Zhao, X., & Lee, R. J. (2007). Lipid-Based Nanoparticulate Drug Delivery Systems. Dalam e. Deepak Thassu, *Nanoparticulate Drug Delivery Systems* (Vol. 166, hal. 89-92). New York: Informa Health Care USA, Inc.



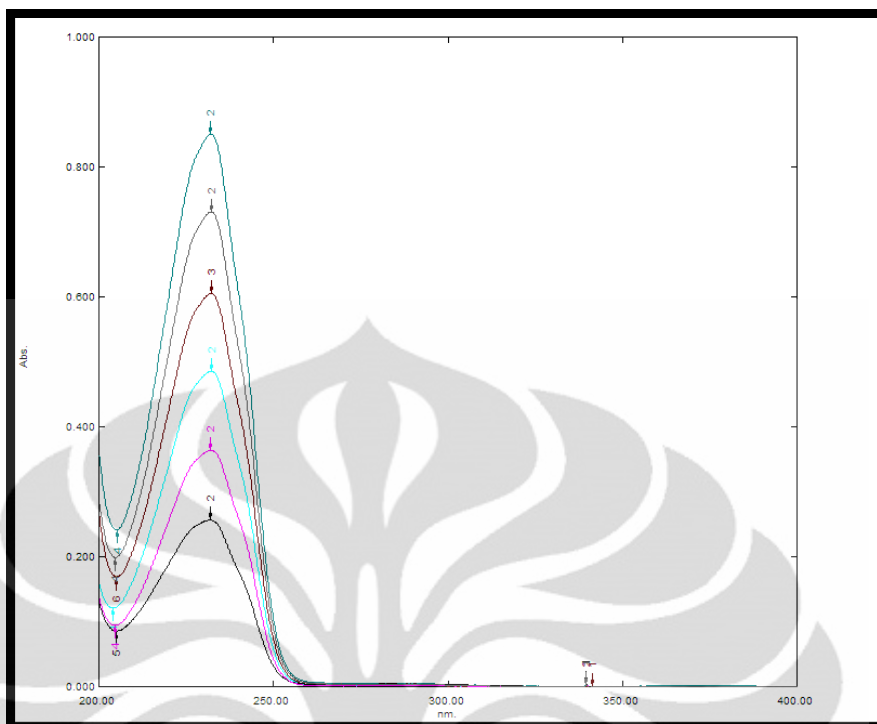




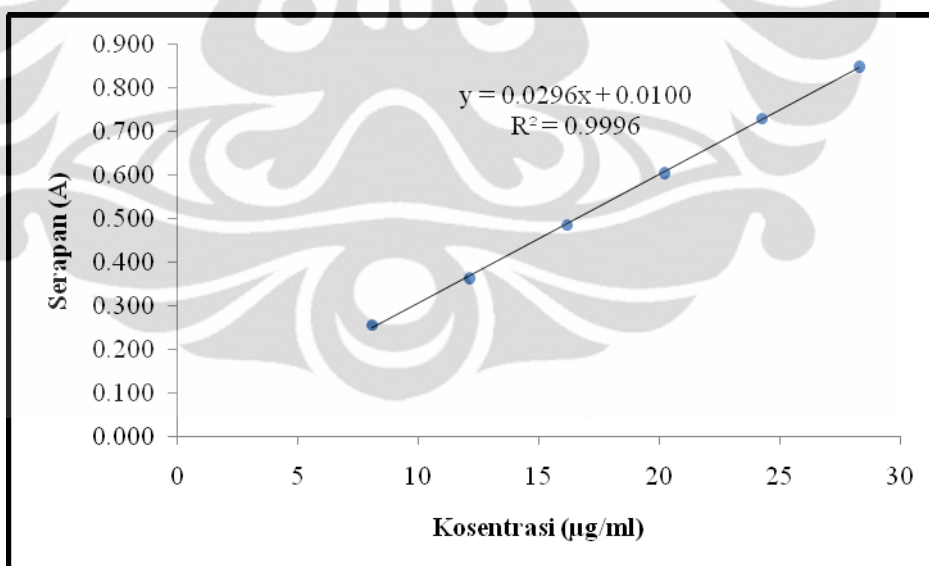
Gambar 4.8. Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4.



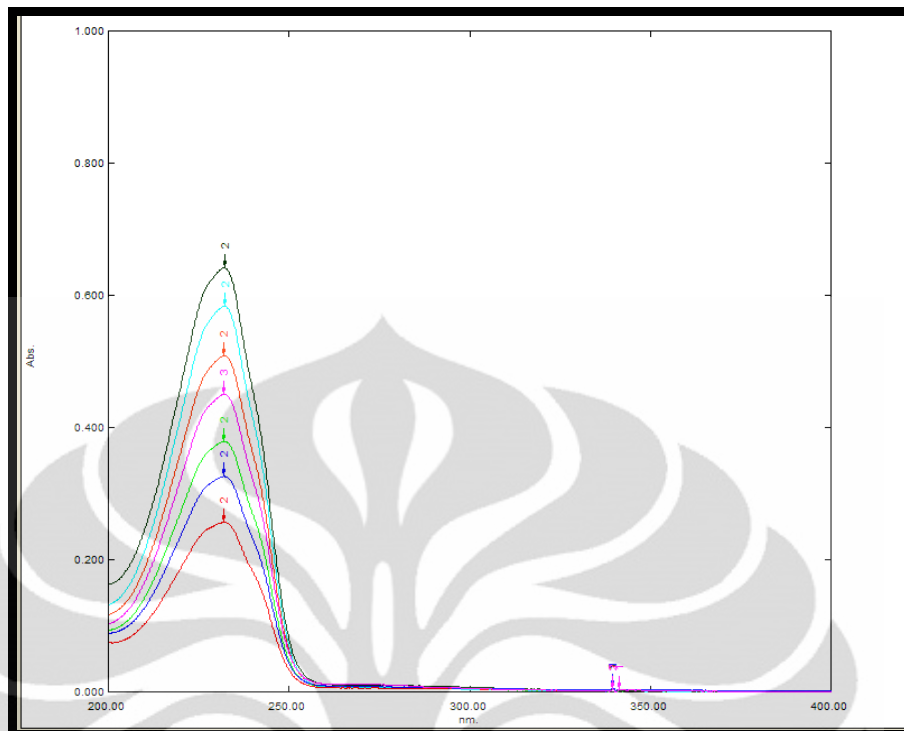
Gambar 4.9. Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 7,4



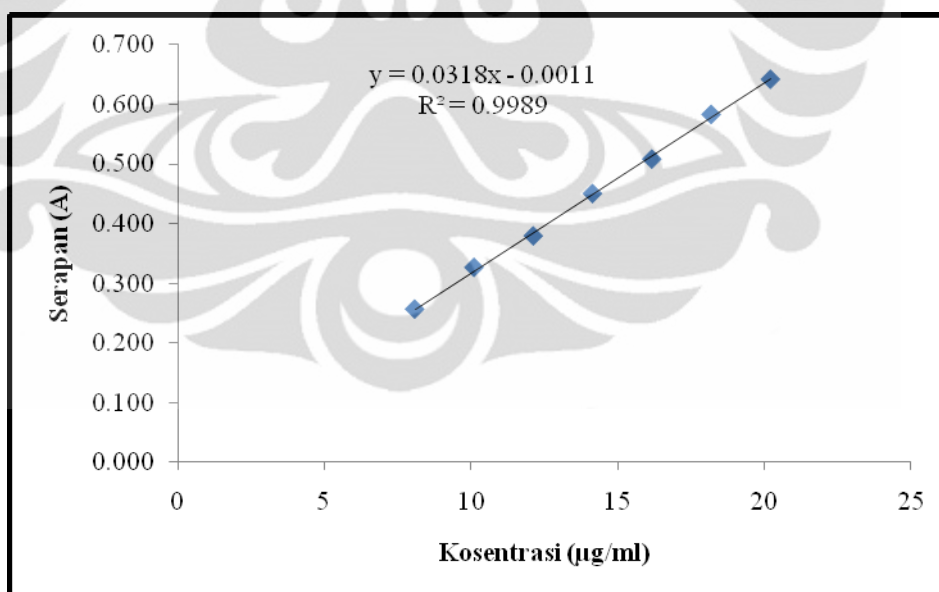
Gambar 4.10. Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar klorida pH 2



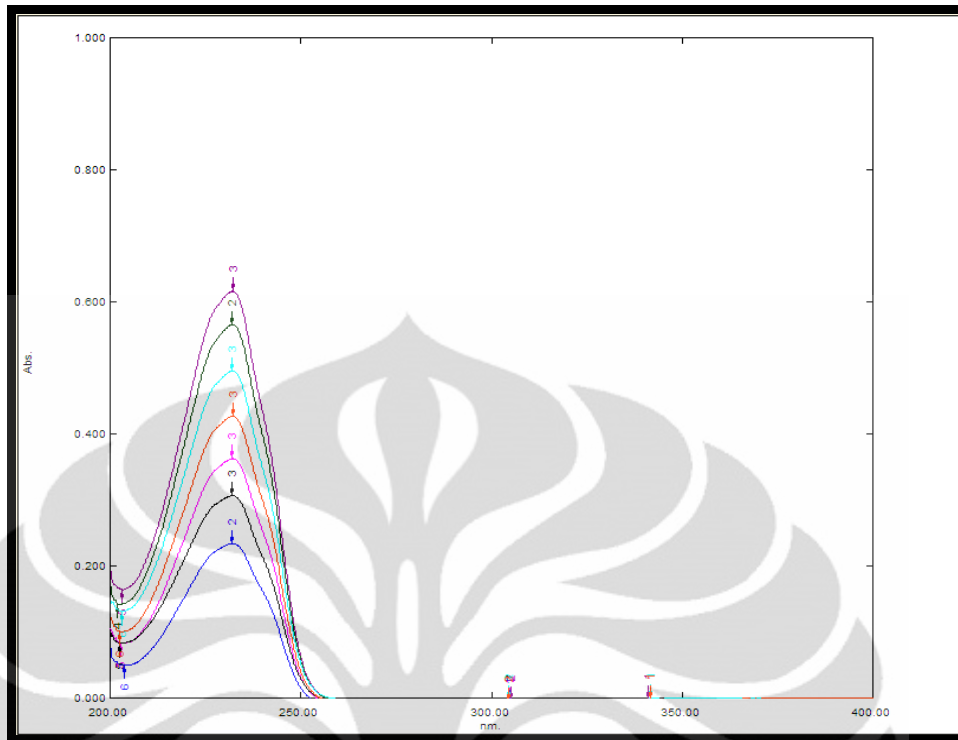
Gambar 4.11. Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar klorida pH 2



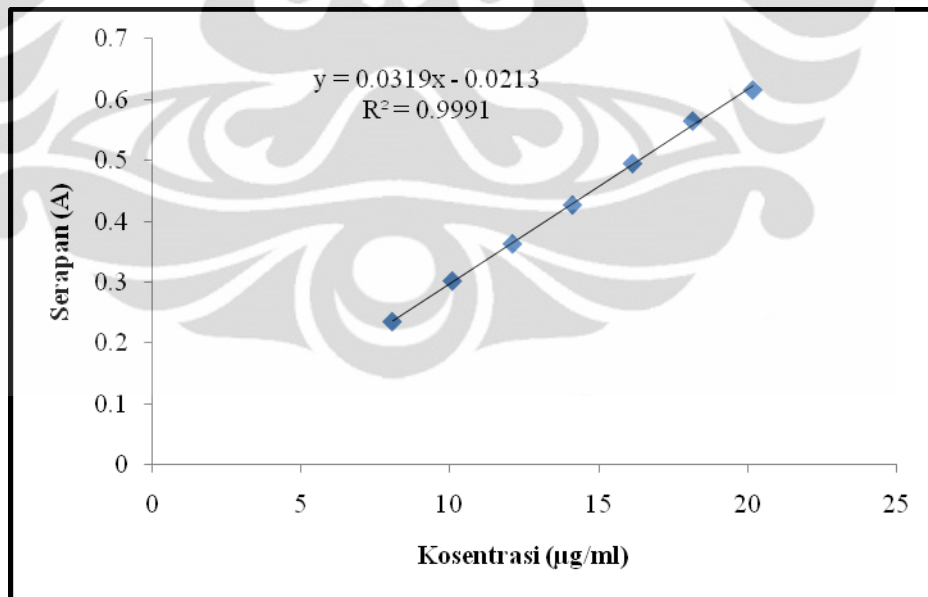
Gambar 4.12. Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 5,5



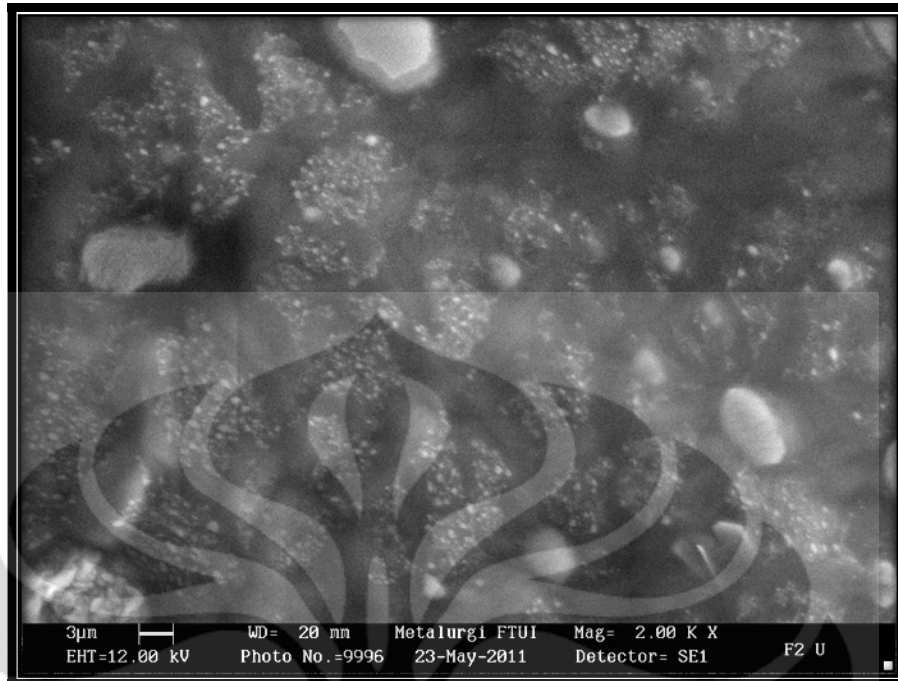
Gambar 4.13. Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 5,5



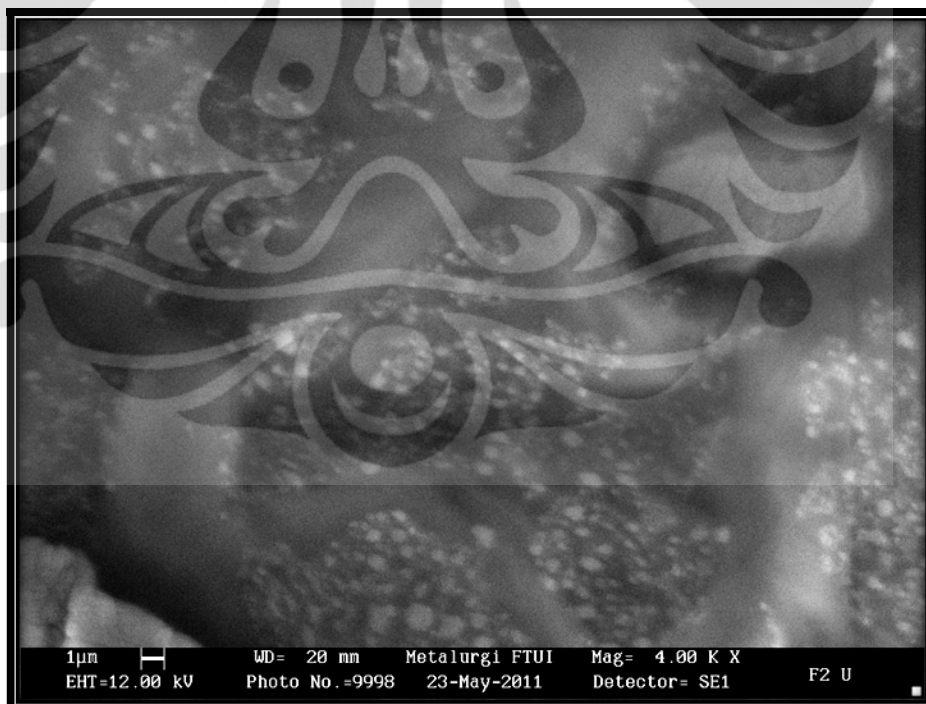
Gambar 4.14. Kurva serapan spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 8



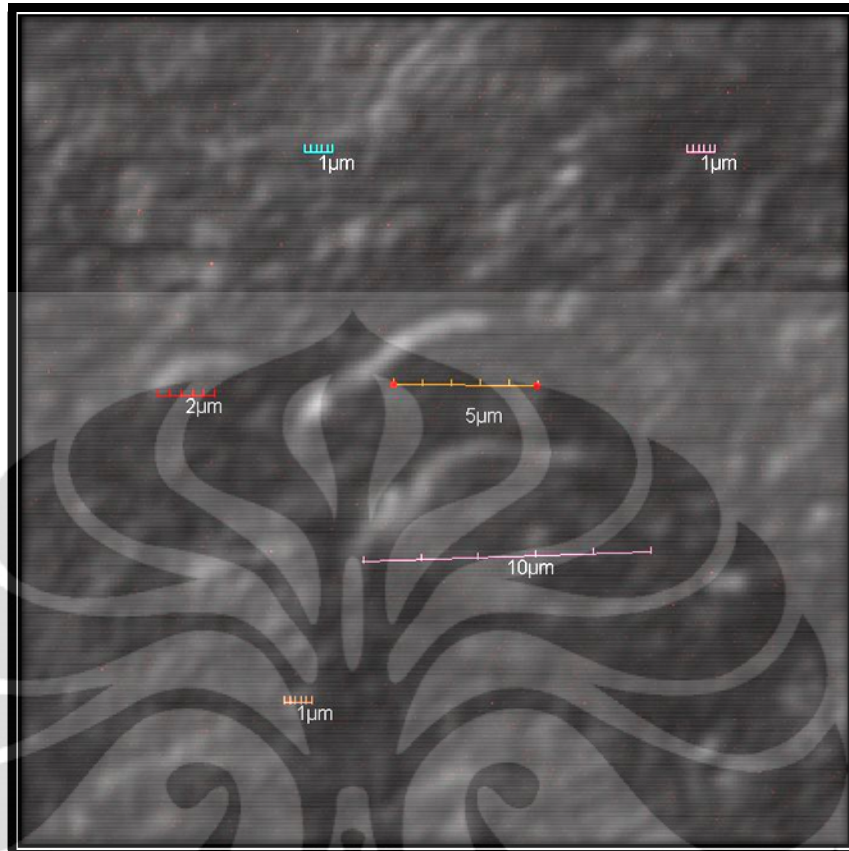
Gambar 4.15. Kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar fosfat pH 8



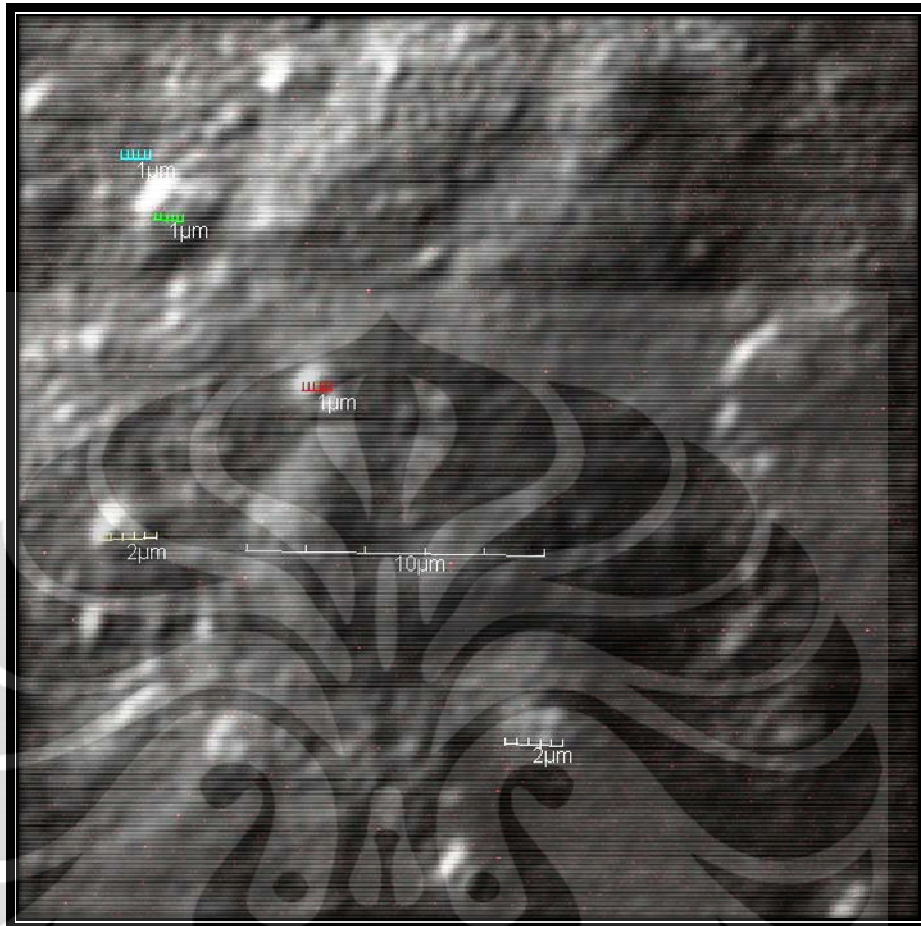
Gambar 4.16. Morfologi liposom formula 2 hasil pengukuran dengan SEM digital zoom 2000x



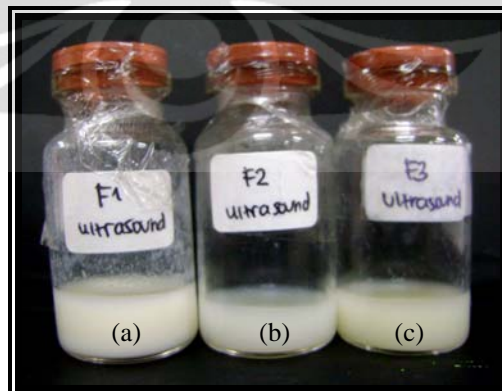
Gambar 4.17. Morfologi liposom formula 2 hasil pengukuran dengan SEM digital zoom 4000x



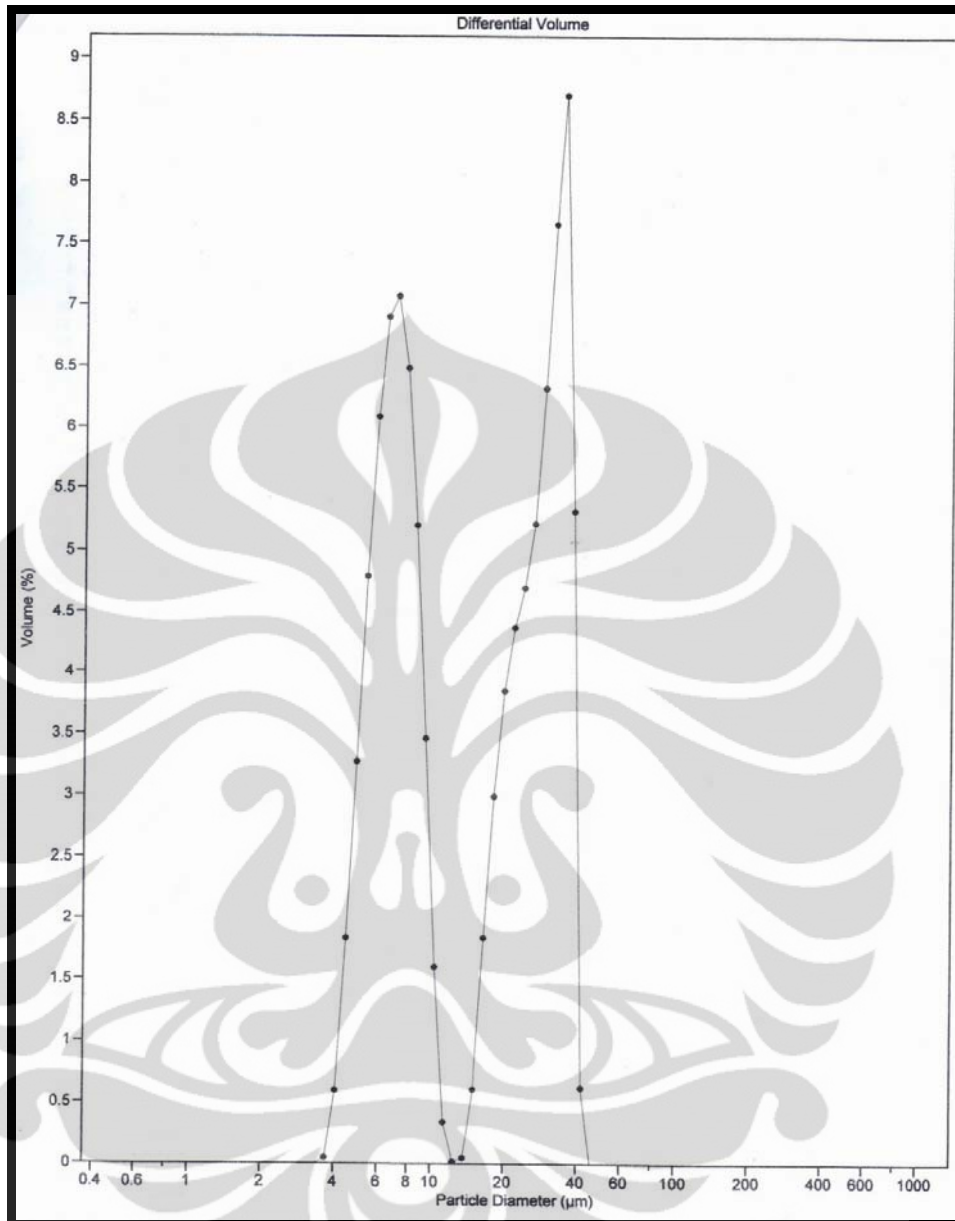
Gambar 4.18. Morfologi liposom formula 1 hasil pengukuran dengan mikroskop konfokal (perbesaran 60x7)



Gambar 4.19. Morfologi liposom formula3 hasil pengukuran dengan mikroskop konfokal (perbesaran 60x7)



Gambar 4.20. Hasil pembuatan suspensi liposom formula 1 (a), formula 2 (b), formula 3 (c)

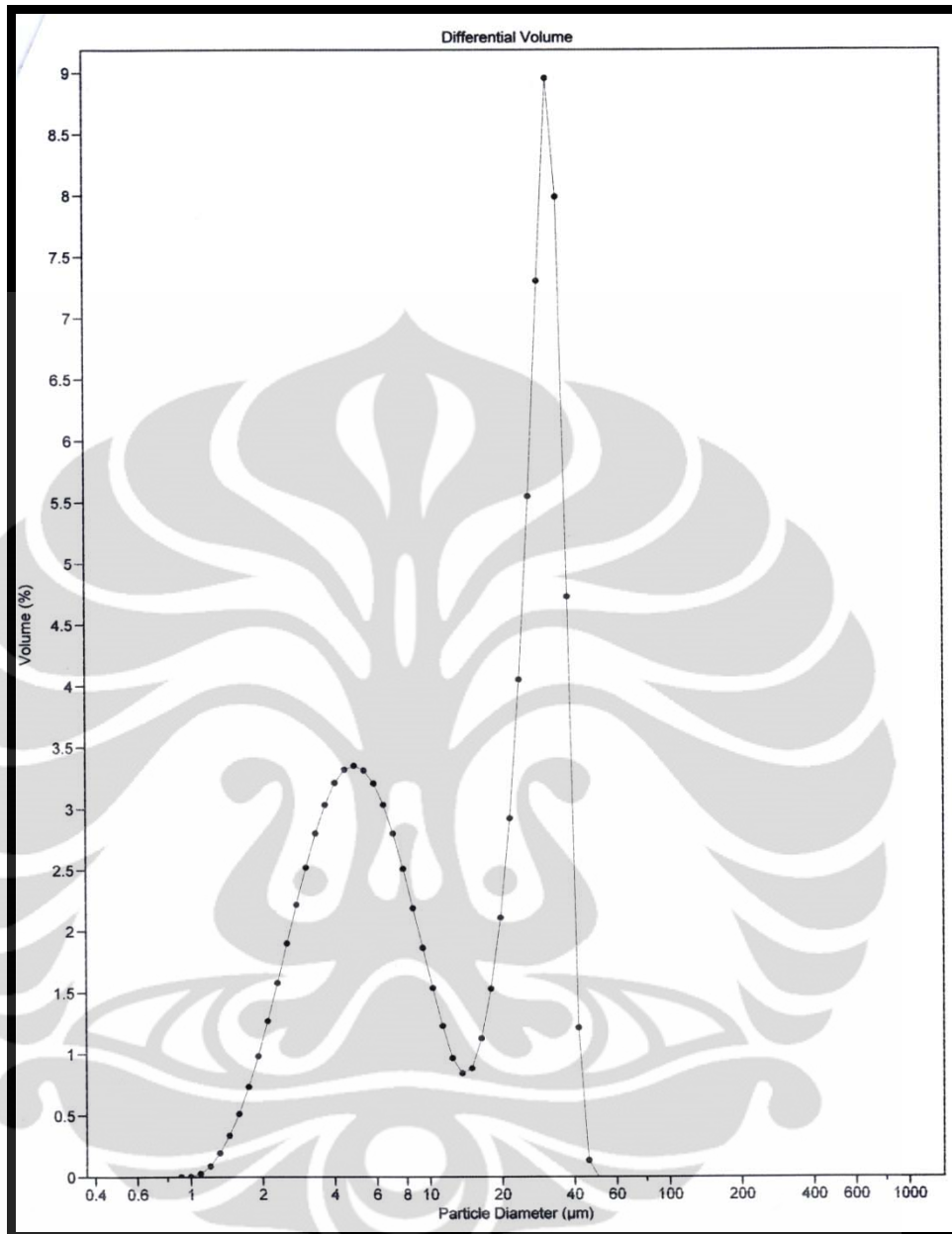


Gambar 4.21. Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 1 sebelum diultrasonikasi

Mean: 17,96 µm

Median: 16,99 µm

Modus: 34,58 µm

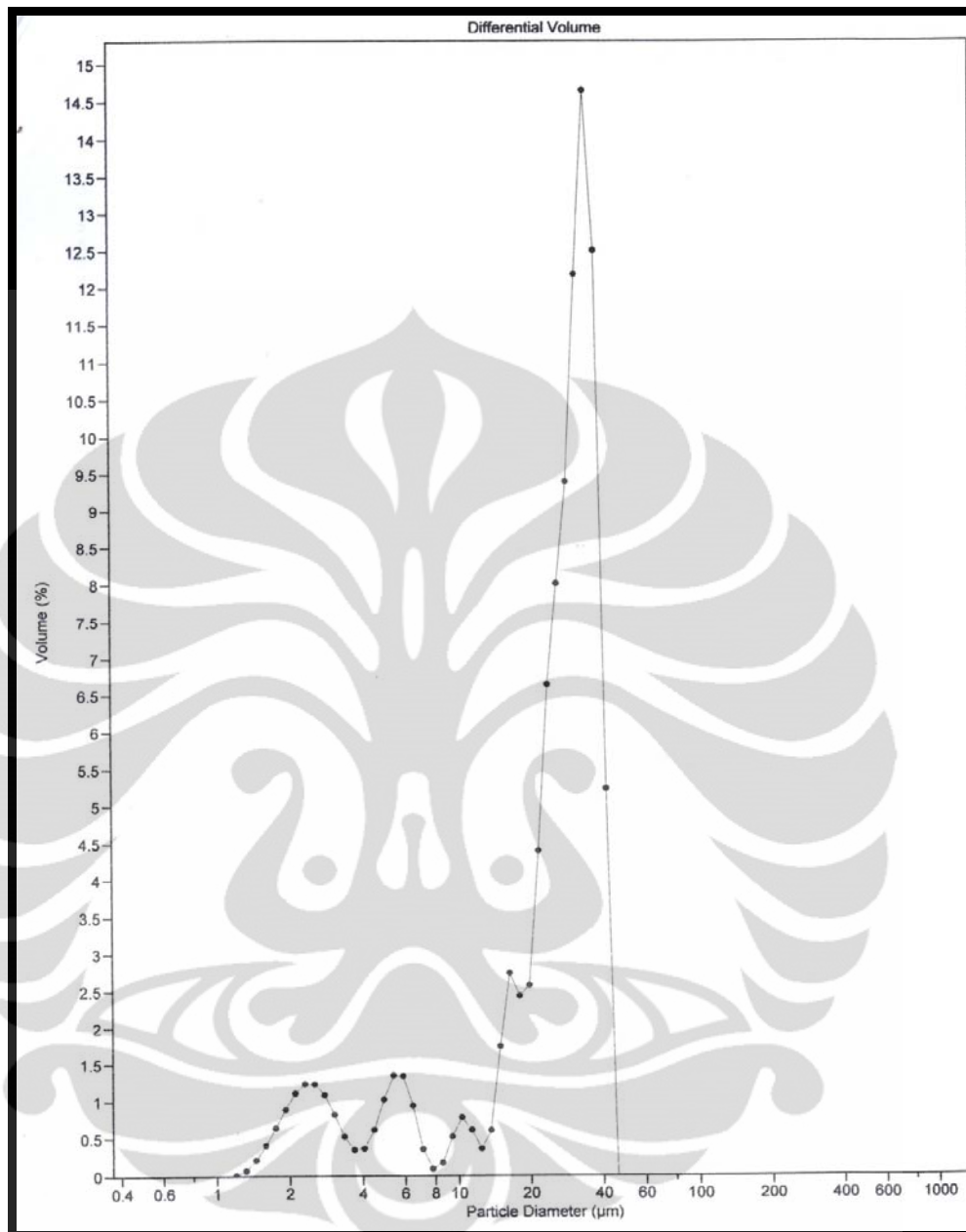


Gambar 4.22. Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 1 setelah diultrasonikasi

Mean: 16,89 µm

Median: 12, 16 µm

Modus: 31,50 µm

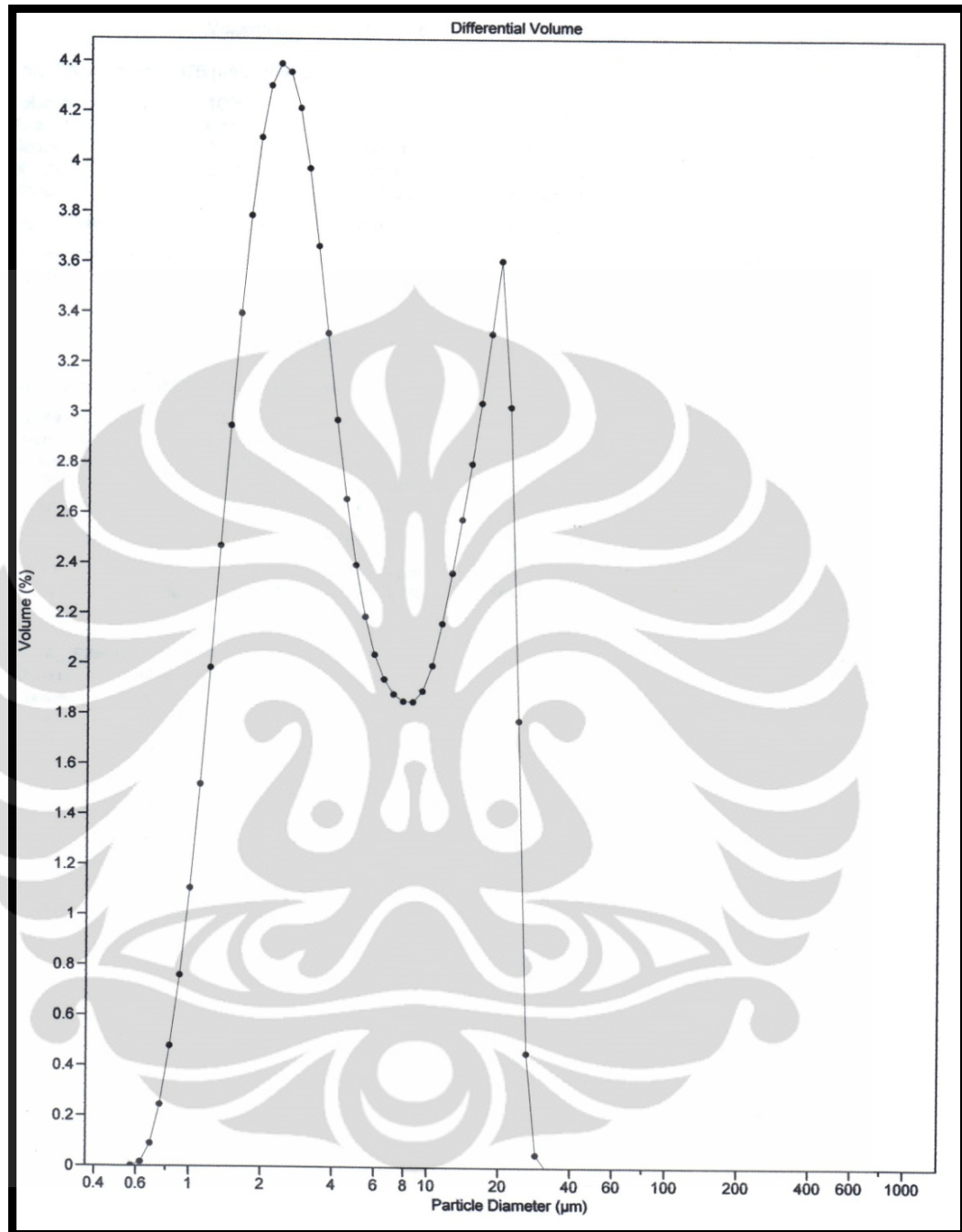


Gambar 4.23. Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 2 sebelum diultrasonikasi

Mean: 25,65 µm

Median: 28, 50 µm

Modus: 34,58 µm

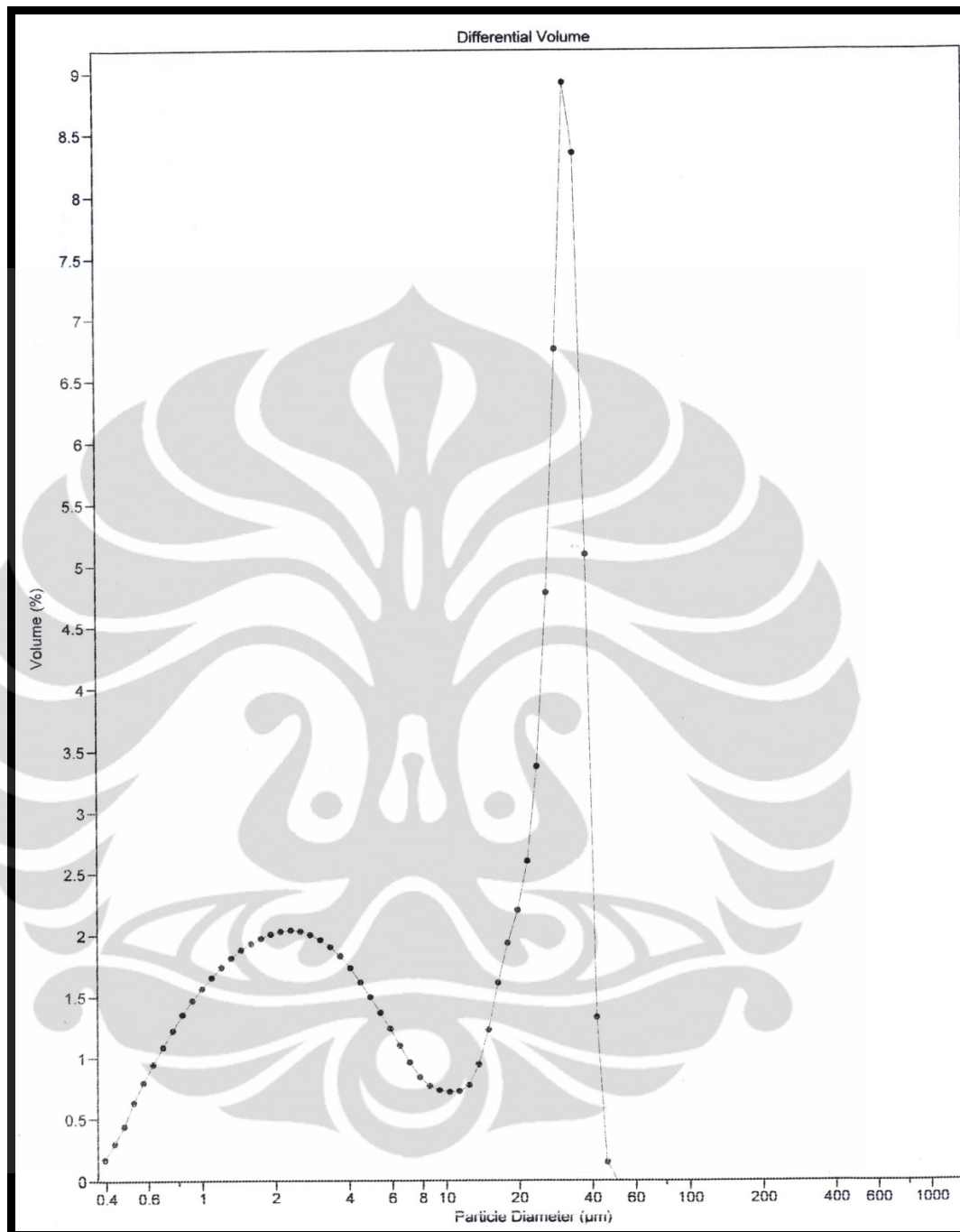


Gambar 4.24. Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 2 setelah diultrasonikasi

Mean: 6,99 μm

Median: 3,75 μm

Modus: 2,31 μm

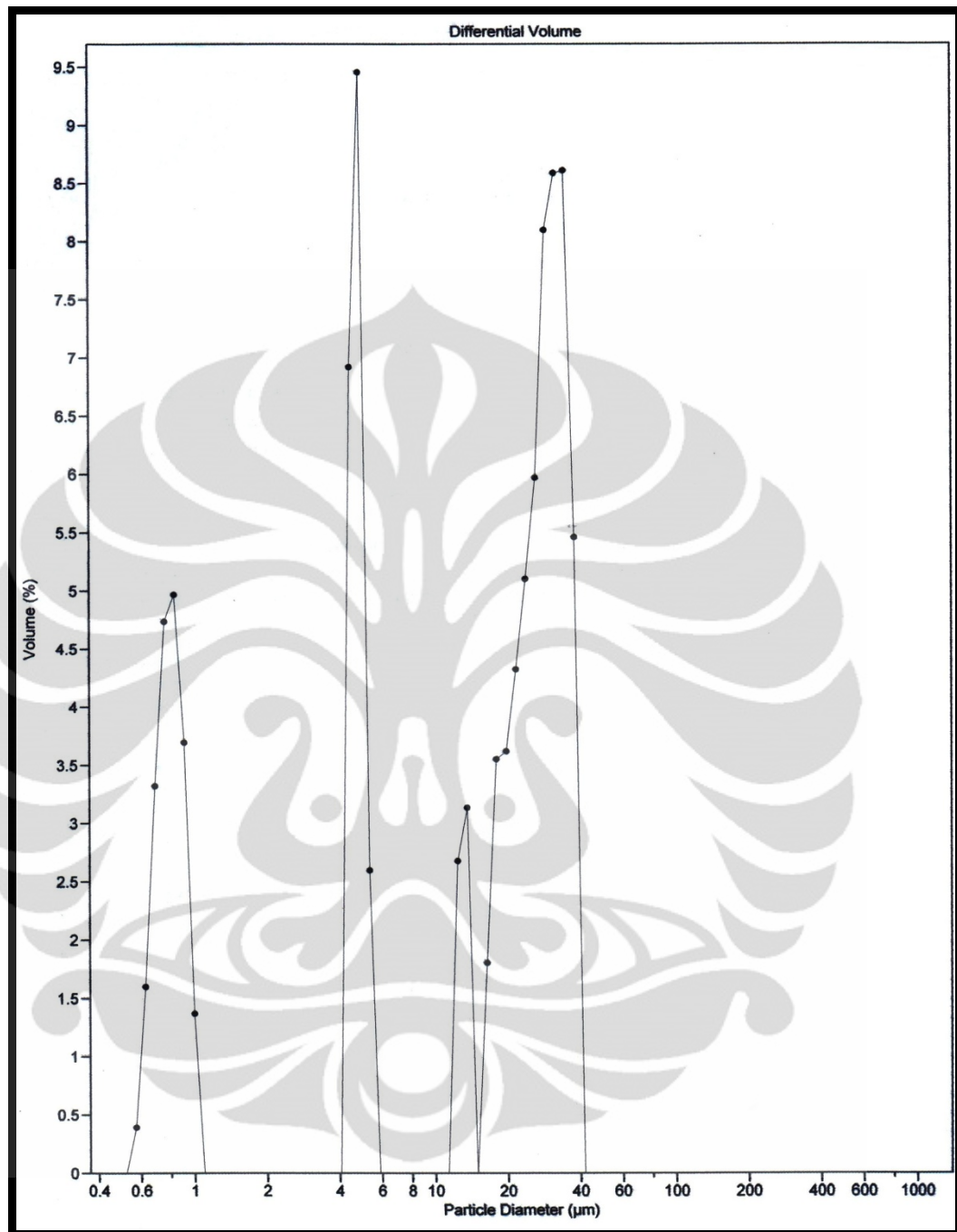


Gambar 4.25. Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 3 sebelum diultrasonikasi

Mean: 17,27 µm

Median: 18,76 µm

Modus: 31,50 µm

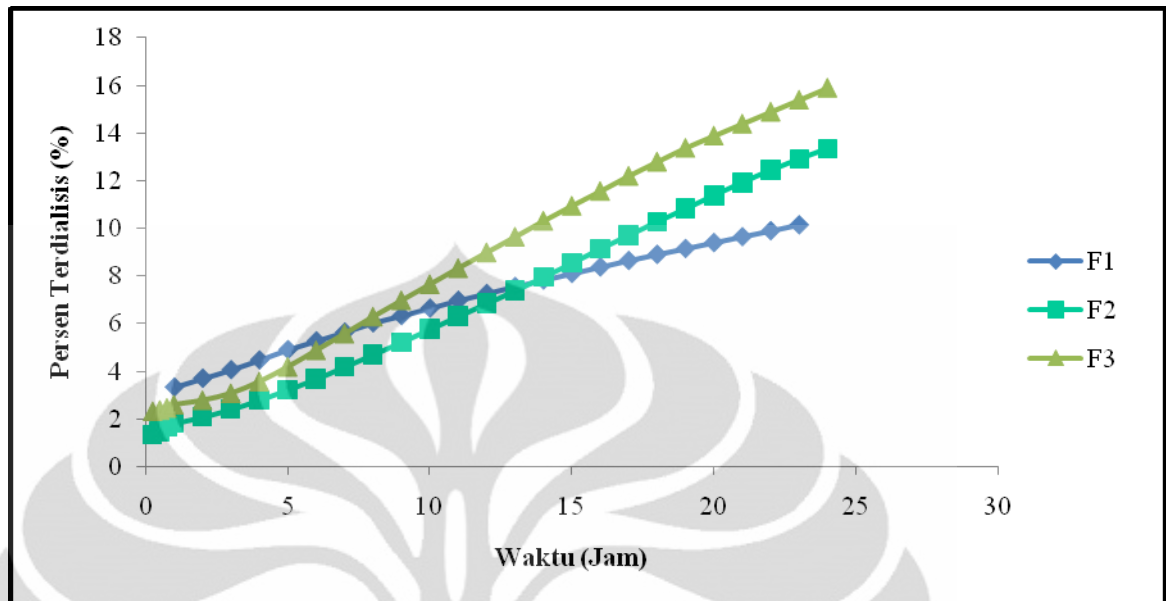


Gambar 4.26. Grafik hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 3 setelah diultrasonikasi

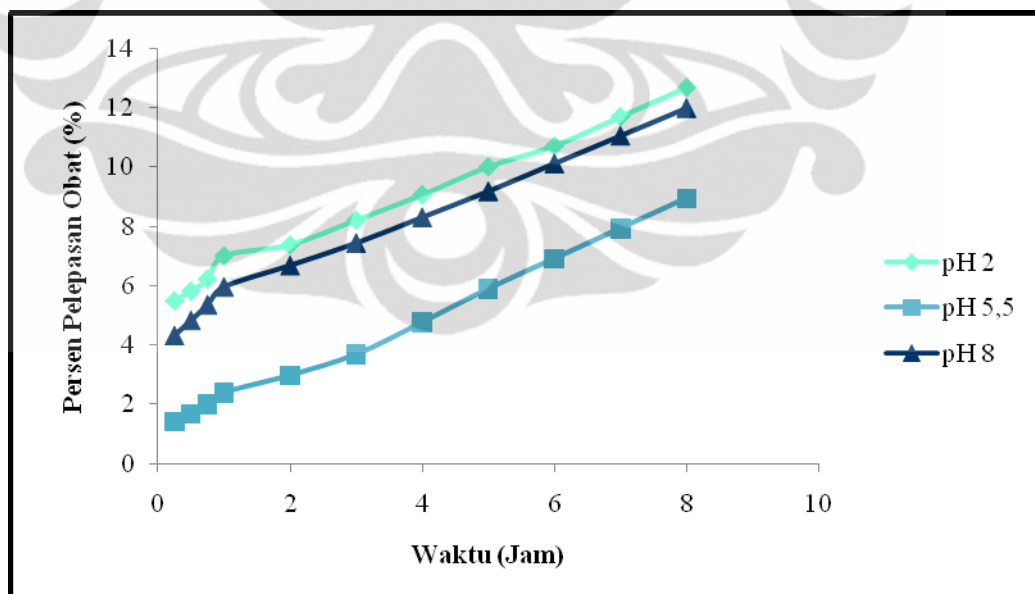
Mean: 15,76 µm

Median: 11,81 µm

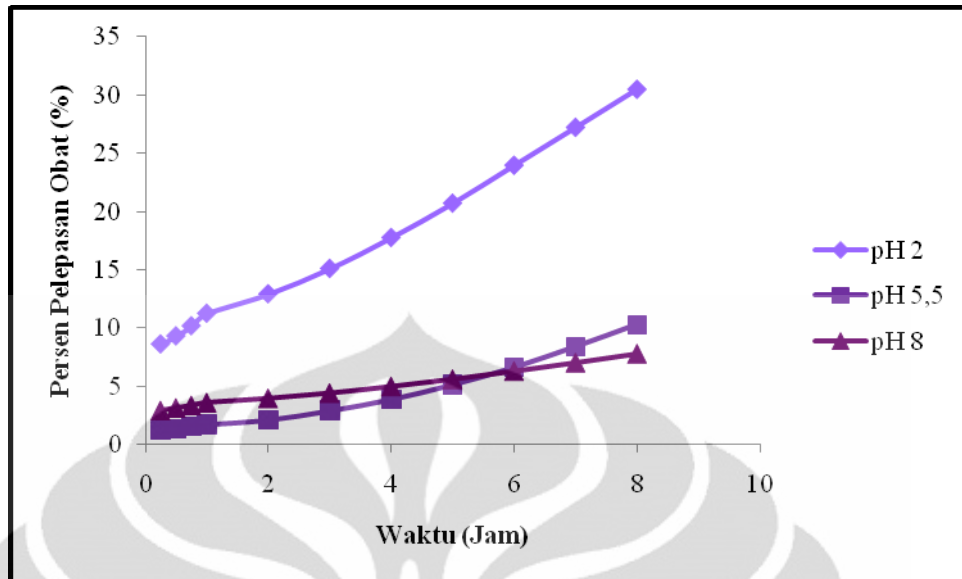
Modus: 4,87 µm



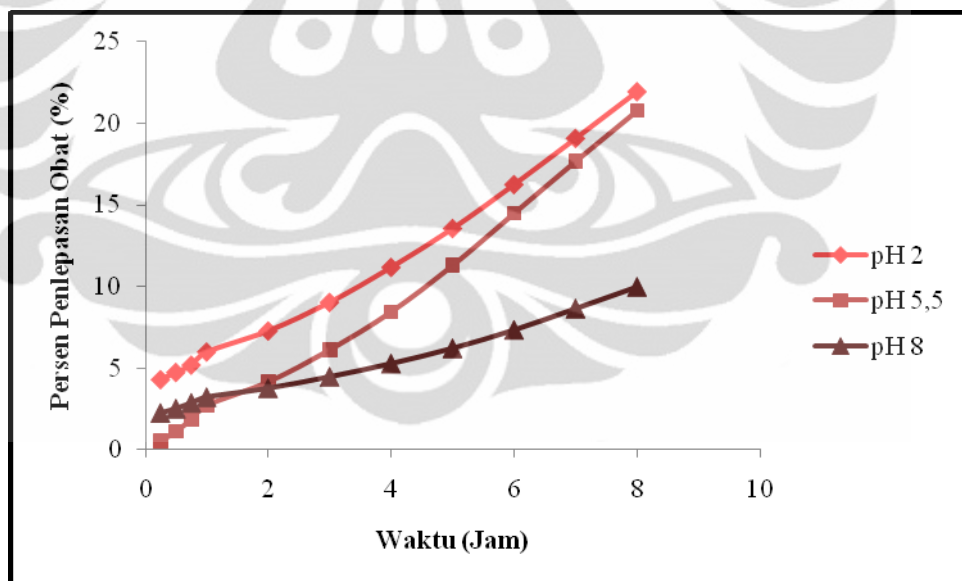
Gambar 4.27. Grafik persentase spiramisin terdialisis dengan menggunakan medium pH 7,4 selama 24 jam



Gambar 4.28. Grafik persentase pelepasan spiramisin dari liposom formula 1 selama 8 jam



Gambar 4.29. Grafik persentase pelepasan spiramisin dari liposom formula 2 selama 8 jam



Gambar 4.30. Grafik persentase pelepasan spiramisin dari liposom formula 3 selama 8 jam



Tabel 4.1. Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 7,4

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Serapan (A)
6	0.202
10	0.337
14	0.467
18	0.600
22	0.760
26	0.865

$$y = 0,0334x + 0,0003$$

$$r = 0,9988.$$

Tabel 4.2. Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 2

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Serapan (A)
8,088	0,256
12,132	0,364
16,176	0,486
20,220	0,605
24,264	0,731
28,308	0,850

$$y = 0,0296x + 0,0100$$

$$r = 0,9996$$

Tabel 4.3. Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 5,5

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Serapan (A)
8,088	0,256
10,110	0,326
12,132	0,379
14,154	0,450
16,176	0,508
18,198	0,583
20,220	0,642

$$y = 0,0318x - 0,0011$$

$$r = 0,9989$$

Tabel 4.4. Kosentrasi dan serapan kurva kalibrasi spiramisin dalam larutan dapar pH 8

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	A
8,072	0,235
10,090	0,302
12,108	0,363
14,126	0,427
16,144	0,495
18,162	0,565
20,180	0,616

$$y = 0,0319x - 0,0213$$

$$r = 0,9991$$

Tabel 4.5. Data hasil dialisis formula 1

Waktu (Jam)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Terdialisis (%)
1	0,541	1,607	3,327
2	0,598	1,785	3,695
3	0,590	1,960	4,058
4	0,665	2,158	4,467
5	0,709	2,368	4,903
6	0,600	2,546	5,272
7	0,602	2,725	5,642
8	0,635	2,914	6,033
9	0,490	3,059	6,334
10	0,516	3,213	6,651
11	0,537	3,372	6,982
12	0,469	3,511	7,270
13	0,477	3,653	7,564
14	0,445	3,785	7,837
15	0,445	3,918	8,111
16	0,449	4,051	8,387
17	0,443	4,183	8,660
18	0,418	4,307	8,917
19	0,405	4,427	9,166
20	0,405	4,548	9,415
21	0,405	4,668	9,664
22	0,405	4,788	9,914
23	0,405	4,909	10,163
24	0,405	5,029	10,412

Tabel 4.6. Data hasil dialisis formula 2

Waktu (Jam)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Terdialisis (%)
0,25	0,072	0,215	1,338
0,5	0,079	0,239	1,485
0,75	0,093	0,267	1,658
1	0,088	0,293	1,821
2	0,142	0,335	2,084
3	0,175	0,388	2,407
4	0,213	0,451	2,801
5	0,23	0,519	3,226
6	0,249	0,593	3,686
7	0,274	0,675	4,193
8	0,276	0,757	4,702
9	0,282	0,841	5,223
10	0,294	0,928	5,766
11	0,296	1,016	6,313
12	0,288	1,102	6,845
13	0,293	1,189	7,386
14	0,307	1,280	7,953
15	0,32	1,375	8,544
16	0,325	1,472	9,145
17	0,307	1,563	9,712
18	0,306	1,654	10,277
19	0,298	1,743	10,827
20	0,303	1,833	11,387
21	0,294	1,920	11,930
22	0,279	2,003	12,445
23	0,253	2,079	12,913
24	0,235	2,149	13,347

Tabel 4.7. Data hasil dialisis formula 3

Waktu (Jam)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Terdialisis (%)
0,25	0,064	0,744	2,318
0,5	0,057	0,761	2,371
0,75	0,099	0,790	2,463
1	0,135	0,831	2,589
2	0,202	0,891	2,776
3	0,318	0,985	3,071
4	0,529	1,142	3,561
5	0,673	1,342	4,184
6	0,747	1,564	4,875
7	0,755	1,788	5,574
8	0,770	2,017	6,287
9	0,736	2,235	6,968
10	0,732	2,453	7,646
11	0,731	2,670	8,323
12	0,710	2,881	8,980
13	0,709	3,091	9,637
14	0,721	3,306	10,304
15	0,680	3,507	10,934
16	0,665	3,705	11,549
17	0,691	3,910	12,189
18	0,641	4,101	12,782
19	0,626	4,287	13,362
20	0,552	4,451	13,873
21	0,542	4,612	14,375
22	0,544	4,773	14,879
23	0,540	4,934	15,379
24	0,543	5,095	15,882

Tabel 4.8. Data hasil evaluasi sensitivitas pH liposom formula 1

Waktu (Jam)	pH 2			pH 5,5			pH 8		
	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)
0,25	0,141	0,443	5,50	0,035	0,114	1,42	0,087	0,349	4,34
0,5	0,089	0,469	5,83	0,065	0,135	1,67	0,106	0,390	4,85
0,75	0,106	0,502	6,23	0,079	0,160	1,99	0,110	0,432	5,37
1	0,196	0,565	7,01	0,101	0,192	2,39	0,129	0,481	5,97
2	0,098	0,594	7,38	0,148	0,239	2,97	0,159	0,539	6,70
3	0,208	0,661	8,21	0,180	0,296	3,68	0,167	0,600	7,45
4	0,214	0,730	9,07	0,275	0,383	4,75	0,196	0,670	8,32
5	0,235	0,806	10,01	0,289	0,474	5,89	0,197	0,740	9,19
6	0,176	0,862	10,71	0,259	0,556	6,90	0,212	0,815	10,13
7	0,245	0,942	11,70	0,260	0,638	7,92	0,212	0,891	11,06
8	0,244	1,021	12,68	0,259	0,720	8,94	0,212	0,966	12,00

Tabel 4.9. Data hasil uji sensitivitas pH liposom formula 2.

Waktu (Jam)	pH 2			pH 5,5			pH 8		
	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)
0,25	0,105	0,693	8,60	0,030	0,098	1,22	0,032	0,236	2,93
0,5	0,175	0,748	9,30	0,036	0,110	1,36	0,036	0,254	3,15
0,75	0,218	0,819	10,17	0,052	0,126	1,57	0,035	0,271	3,37
1	0,266	0,905	11,24	0,042	0,140	1,74	0,041	0,291	3,61
2	0,408	1,040	12,92	0,099	0,171	2,13	0,071	0,320	3,97
3	0,529	1,215	15,09	0,200	0,235	2,92	0,095	0,356	4,42
4	0,644	1,429	17,75	0,246	0,312	3,88	0,124	0,402	4,99
5	0,713	1,667	20,71	0,321	0,414	5,14	0,139	0,452	5,61
6	0,785	1,928	23,96	0,378	0,533	6,62	0,156	0,507	6,30
7	0,787	2,191	27,22	0,453	0,676	8,39	0,166	0,566	7,03
8	0,788	2,454	30,49	0,482	0,828	10,28	0,175	0,628	7,80

Tabel 4.10. Data hasil uji sensitivitas liposom formula 3

Waktu (Jam)	pH 2			pH 5,5			pH 8		
	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)	Serapan (A)	Berat Akumulatif (mg)	Persen Pelepasan Obat (%)
0,25	0,112	0,345	4,30	0,066	0,021	0,52	0,035	0,181	2,26
0,5	0,115	0,380	4,74	0,075	0,045	1,12	0,046	0,203	2,53
0,75	0,117	0,416	5,19	0,094	0,075	1,87	0,065	0,231	2,88
1	0,200	0,480	5,99	0,107	0,109	2,71	0,066	0,259	3,23
2	0,316	0,584	7,28	0,183	0,167	4,16	0,113	0,302	3,77
3	0,426	0,724	9,03	0,249	0,245	6,12	0,154	0,359	4,47
4	0,521	0,897	11,18	0,296	0,339	8,45	0,178	0,423	5,27
5	0,575	1,088	13,56	0,362	0,453	11,30	0,211	0,498	6,21
6	0,650	1,304	16,26	0,407	0,581	14,50	0,257	0,588	7,33
7	0,682	1,531	19,09	0,405	0,709	17,68	0,303	0,692	8,63
8	0,690	1,761	21,96	0,394	0,833	20,78	0,308	0,798	9,95

Tabel 4.11. Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 1 dengan *Particle Size Analyzer*

Channel Diameter (μm)	Sebelum Ultrasonikasi		Setelah Ultrasonikasi	
	% Diff. Volume	% Diff. Jumlah	% Diff. Volume	% Diff. Jumlah
0,375	0	0	0	0
0,412	0	0	0	0
0,452	0	0	0	0
0,496	0	0	0	0
0,545	0	0	0	0
0,598	0	0	0	0
0,656	0	0	0	0
0,721	0	0	0	0
0,791	0	0	0	0
0,868	0	0	0,00023	0,020
0,953	0	0	0,00410	0,270
1,047	0	0	0,02600	1,280
1,149	0	0	0,08700	3,180
1,261	0	0	0,19000	5,330
1,384	0	0	0,34000	7,030
1,520	0	0	0,51000	8,140
1,668	0	0	0,73000	8,750
1,832	0	0	0,98000	8,900
2,011	0	0	1,27000	8,680
2,207	0	0	1,58000	8,160
2,423	0	0	1,90000	7,430
2,660	0	0	2,22000	6,550
2,920	0	0	2,52000	5,630
3,205	0	0	2,80000	4,720
3,519	0,046	0,4700	3,03000	3,870
3,863	0,600	4,5700	3,21000	3,100
4,240	1,840	10,6000	3,32000	2,420
4,655	3,270	14,3000	3,35000	1,850

5,110	4,800	15,8000	3,31000	1,380
5,610	6,090	15,2000	3,20000	1,010
6,158	6,910	13,0000	3,03000	0,720
6,760	7,070	10,1000	2,80000	0,500
7,421	6,490	6,9900	2,51000	0,340
8,147	5,200	4,2300	2,19000	0,220
8,943	3,460	2,1300	1,86000	0,140
9,818	1,600	0,7400	1,54000	0,090
10,780	0,340	0,1200	1,23000	0,055
11,830	0,016	0,0043	0,97000	0,032
12,990	0,045	0,0091	0,84000	0,021
14,260	0,610	0,7400	0,88000	0,017
15,650	1,840	0,2100	1,12000	0,016
17,180	2,990	0,2600	1,53000	0,017
18,860	3,850	0,2500	2,11000	0,017
20,710	4,370	0,2200	2,92000	0,018
22,730	4,700	0,1800	4,05000	0,019
24,950	5,220	0,1500	5,55000	0,020
27,390	6,330	0,1400	7,30000	0,020
30,070	7,660	0,1200	8,95000	0,018
33,010	8,710	0,1100	7,99000	0,012
36,240	5,320	0,0490	4,73000	0,006
39,780	0,620	0,0044	1,21000	0,001
43,670	0	0	0,13000	0,000
47,940	0	0	0	0
52,620	0	0	0	0
57,770	0	0	0	0
63,410	0	0	0	0
69,610	0	0	0	0
76,420	0	0	0	0
83,890	0	0	0	0
92,090	0	0	0	0

101,100	0	0	0	0
111,000	0	0	0	0
121,800	0	0	0	0
133,700	0	0	0	0
146,800	0	0	0	0
161,200	0	0	0	0
176,900	0	0	0	0
194,200	0	0	0	0
213,200	0	0	0	0
234,000	0	0	0	0
256,900	0	0	0	0
282,100	0	0	0	0
309,600	0	0	0	0
339,900	0	0	0	0
373,100	0	0	0	0
409,600	0	0	0	0
449,700	0	0	0	0
493,600	0	0	0	0
541,900	0	0	0	0
594,800	0	0	0	0
653,000	0	0	0	0
716,800	0	0	0	0
786,900	0	0	0	0
863,900	0	0	0	0

Tabel 4.12. Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula dengan *Particle Size Analyzer*

Channel Diameter (μm)	Sebelum Ultrasonikasi		Setelah Ultrasonikasi	
	% Diff. Volume	% Diff. Jumlah	% Diff. Volume	% Diff. Jumlah
0,375	0	0	0	0
0,412	0	0	0	0
0,452	0	0	0	0
0,496	0	0	0	0
0,545	0	0	0,0013	0,056000
0,598	0	0	0,0170	0,560000
0,656	0	0	0,0890	2,280000
0,721	0	0	0,2400	4,710000
0,791	0	0	0,4800	6,960000
0,868	0	0	0,7600	8,350000
0,953	0	0	1,1100	9,200000
1,047	0	0	1,5200	9,560000
1,149	0,0082	0,5300	1,9800	9,440000
1,261	0,0680	3,3300	2,4700	8,880000
1,384	0,2100	7,7100	2,9500	8,010000
1,520	0,4000	11,3000	3,3900	6,970000
1,668	0,6400	13,5000	3,7900	5,880000
1,832	0,8900	14,1000	4,1000	4,810000
2,011	1,1100	13,3000	4,3000	3,820000
2,207	1,2300	11,2000	4,3900	2,950000
2,423	1,2300	8,4700	4,3600	2,210000
2,660	1,0800	5,6200	4,2100	1,610000
2,920	0,8200	3,2000	3,9700	1,150000
3,205	0,5200	1,5500	3,6600	0,800000
3,519	0,3500	0,7700	3,3200	0,550000
3,863	0,3600	0,6200	2,9700	0,370000
4,240	0,6100	0,7900	2,6600	0,250000
4,655	1,0200	0,9900	2,4000	0,170000

5,110	1,3400	0,9800	2,1900	0,120000
5,610	1,3400	0,7400	2,0400	0,083000
6,158	0,9300	0,3900	1,9400	0,060000
6,760	0,3500	0,1100	1,8800	0,044000
7,421	0,0880	0,0210	1,8600	0,033000
8,147	0,1600	0,0300	1,8500	0,025000
8,943	0,5200	0,0710	1,9000	0,019000
9,818	0,7700	0,0800	2,0000	0,015000
10,780	0,6100	0,0470	2,1600	0,012000
11,830	0,3600	0,0210	2,3700	0,010000
12,990	0,6000	0,0270	2,5800	0,008500
14,260	1,7300	0,0580	2,8000	0,007000
15,650	2,7300	0,0700	3,0400	0,005700
17,180	2,4300	0,0470	3,3200	0,004700
18,860	2,5700	0,0370	3,6100	0,003900
20,710	4,3900	0,0480	3,0300	0,002500
22,730	6,6300	0,0550	1,7800	0,001100
24,950	8,0000	0,0500	0,4600	0,000210
27,390	9,3700	0,0450	0,0520	0,000018
30,070	12,2000	0,0440	0	0
33,010	14,6000	0,0400	0	0
36,240	12,5000	0,0260	0	0
39,780	5,2200	0,0081	0	0
43,670	0	0	0	0
47,940	0	0	0	0
52,620	0	0	0	0
57,770	0	0	0	0
63,410	0	0	0	0
69,610	0	0	0	0
76,420	0	0	0	0
83,890	0	0	0	0
92,090	0	0	0	0

101,100	0	0	0	0
111,000	0	0	0	0
121,800	0	0	0	0
133,700	0	0	0	0
146,800	0	0	0	0
161,200	0	0	0	0
176,900	0	0	0	0
194,200	0	0	0	0
213,200	0	0	0	0
234,000	0	0	0	0
256,900	0	0	0	0
282,100	0	0	0	0
309,600	0	0	0	0
339,900	0	0	0	0
373,100	0	0	0	0
409,600	0	0	0	0
449,700	0	0	0	0
493,600	0	0	0	0
541,900	0	0	0	0
594,800	0	0	0	0
653,000	0	0	0	0
716,800	0	0	0	0
786,900	0	0	0	0
863,900	0	0	0	0

Tabel 4.13 Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel liposom formula 3 dengan *Particle Size Analyzer*

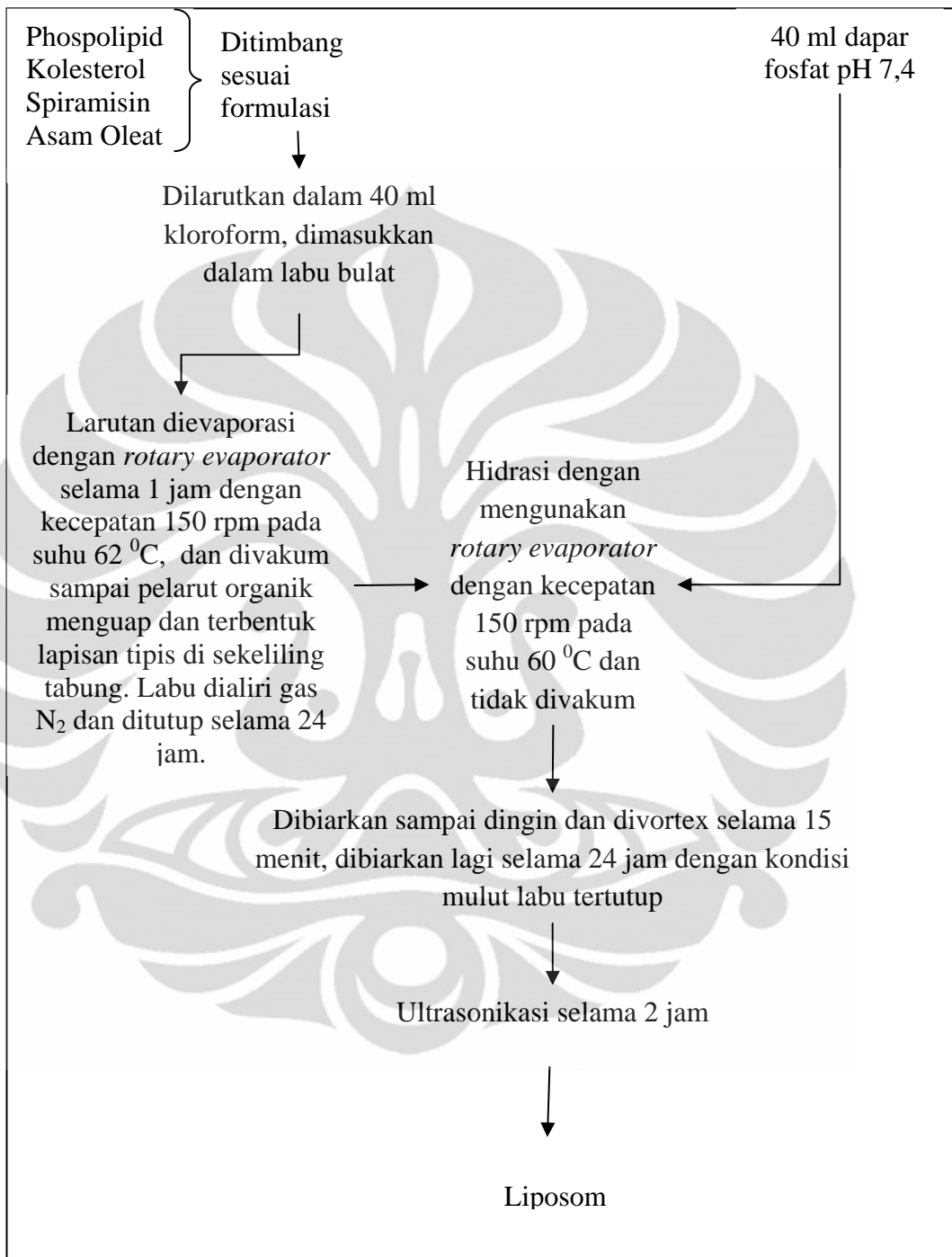
Channel Diameter (μm)	Sebelum Ultrasonikasi		Setelah Ultrasonikasi	
	% Diff. Volume	% Diff. Jumlah	% Diff. Volume	% Diff. Jumlah
0,375	0,17	6,800000	0	0
0,412	0,30	9,110000	0	0
0,452	0,44	10,100000	0	0
0,496	0,63	11,000000	0	0
0,545	0,80	10,500000	0,39	4,69000
0,598	0,95	9,380000	1,60	14,40000
0,656	1,09	8,130000	3,32	22,70000
0,721	1,23	6,930000	4,73	24,40000
0,791	1,35	5,790000	4,97	19,40000
0,868	1,47	4,740000	3,70	10,90000
0,953	1,57	3,830000	1,37	3,05000
1,047	1,66	3,060000	0	0
1,149	1,74	2,430000	0	0
1,261	1,81	1,910000	0	0
1,384	1,88	1,500000	0	0
1,520	1,93	1,160000	0	0
1,668	1,97	0,900000	0	0
1,832	2,00	0,690000	0	0
2,011	2,03	0,530000	0	0
2,207	2,04	0,400000	0	0
2,423	2,03	0,300000	0	0
2,660	2,00	0,220000	0	0
2,920	1,96	0,170000	0	0
3,205	1,90	0,120000	0	0
3,519	1,83	0,089000	0	0
3,863	1,73	0,064000	0	0
4,240	1,62	0,045000	6,92	0,18000

4,655	1,49	0,031000	9,45	0,18000
5,110	1,37	0,022000	2,60	0,03800
5,610	1,24	0,015000	0	0
6,158	1,09	0,009900	0	0
6,760	0,96	0,006600	0	0
7,421	0,84	0,004400	0	0
8,147	0,77	0,003000	0	0
8,943	0,73	0,002200	0	0
9,818	0,72	0,001600	0	0
10,780	0,72	0,001200	0	0
11,830	0,77	0,000990	2,68	0,0031
12,990	0,94	0,000910	3,14	0,0028
14,260	1,23	0,000900	0	0
15,650	1,61	0,000890	1,80	0,00091
17,180	1,93	0,000800	3,55	0,00140
18,860	2,19	0,000690	3,62	0,00100
20,710	2,59	0,000620	4,32	0,00094
22,730	3,37	0,000610	5,10	0,00084
24,950	4,77	0,000650	5,97	0,00074
27,390	6,76	0,000700	8,10	0,00076
30,070	8,92	0,000690	8,59	0,00061
33,010	5,09	0,000230	8,61	0,00046
36,240	1,33	0,000045	5,46	0,00022
39,780	0,14	0,000004	0	0
43,670	0	0	0	0
47,940	0	0	0	0
52,620	0	0	0	0
57,770	0	0	0	0
63,410	0	0	0	0
69,610	0	0	0	0
76,420	0	0	0	0
83,890	0	0	0	0

92,090	0	0	0	0
101,100	0	0	0	0
111,000	0	0	0	0
121,800	0	0	0	0
133,700	0	0	0	0
146,800	0	0	0	0
161,200	0	0	0	0
176,900	0	0	0	0
194,200	0	0	0	0
213,200	0	0	0	0
234,000	0	0	0	0
256,900	0	0	0	0
282,100	0	0	0	0
309,600	0	0	0	0
339,900	0	0	0	0
373,100	0	0	0	0
409,600	0	0	0	0
449,700	0	0	0	0
493,600	0	0	0	0
541,900	0	0	0	0
594,800	0	0	0	0
653,000	0	0	0	0
716,800	0	0	0	0
786,900	0	0	0	0
863,900	0	0	0	0



Lampiran 1. Skema pembuatan liposom menggunakan metode hidrasi lapisan tipis



Lampiran 2. Contoh perhitungan efisiensi penjerapan spiramisin oleh liposom

F 1 jam ke – 1

Hasil pengukuran serapan 0,541 A dimasukkan ke dalam rumus:

$$W_c = \frac{(y_t - a) \times m}{b \times 1000}$$

Persamaan kurva kalibrasi $y = 0,0337x - 0,0006$

Maka didapat:

$$W_c = \frac{(0,541 + 0,0006) \times 100}{0,0337 \times 1000} = 1,607 \text{ mg}$$

Pada jam ke 24 didapat berat akumulatif: 5,029 mg

Konsentrasi spiramisin di dalam vial dialisis (6 ml sampel):

$$\frac{5,029 \text{ mg}}{6 \text{ ml}} = 0,838 \text{ mg/ml}$$

Konsentrasi total di dalam 40 ml suspensi liposom, dengan penimbangan 322 mg:

$$\frac{322 \text{ mg}}{40 \text{ ml}} = 8,05 \text{ mg/ml}$$

Maka didapat efisiensi penjerapan:

$$\frac{8,05 - 0,838}{8,05} \times 100\% = 89,59\%$$

Efisiensi juga dapat diperoleh dari hasil pengurangan dengan persentase akumulatif spiramisin yang terdialisis selama 24 jam

Persentase terdialisis:

$$\frac{0,838}{8,05} \times 100\% = 10,41\%$$

$$100\% - 10,41\% = 89,59\%$$

Lampiran. 3 Contoh perhitungan persen pelepasan obat pada uji sensitivitas pH.

F 1 pH 2 jam pertama (15 menit)

Hasil pengukuran serapan 0,141 A dimasukkan ke dalam rumus:

$$W_c = \frac{(y_t - a) \times m}{b \times 1000}$$

Persamaan kurva kalibrasi $y = 0,0296x + 0,0100$

Maka didapat:

$$W_c = \frac{(0,141 - 0,01) \times 100}{0,0296 \times 1000} = 0,443 \text{ mg}$$

Pada jam ke 8 didapat berat akumulatif: 1,021 mg

Konsentrasi spiramisin di dalam vial dialisis (1 ml sampel):

$$\frac{1,021 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = 1,021 \text{ mg/ml}$$

Konsentrasi total di dalam 40 ml suspensi liposom:

$$\frac{322 \text{ mg}}{40 \text{ ml}} = 8,05 \text{ mg/ml}$$

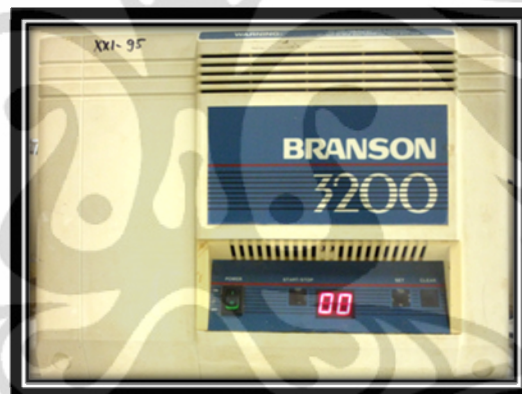
Maka didapat persentase pelepasan obat:

$$\frac{1,021}{8,05} \times 100\% = 12,68\%$$

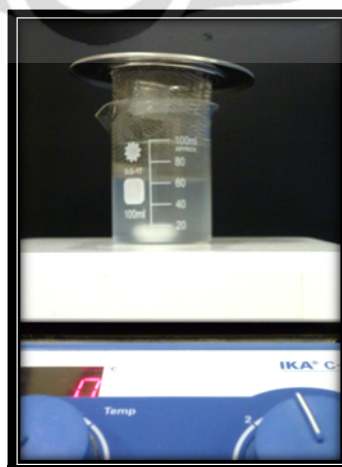
Lampiran 4. Gambar alat-alat yang digunakan



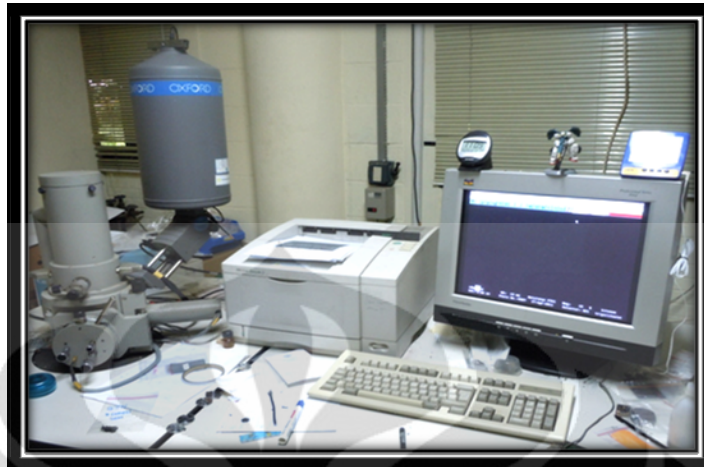
Gambar 1. *Rotary evaporator*



Gambar 2. Alat ultrasonikasi



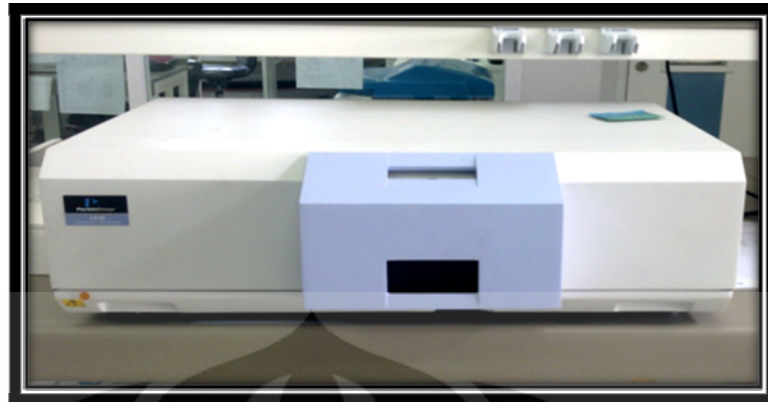
Gambar 3. Alat-alat untuk dialisis dan uji sensitivitas pH



Gambar 4. *Scanning Electron Microscope (SEM)*



Gambar 5. *Particle Size Analyzer (PSA)*




Gambar 6. Spektrofotometri floresensi




Gambar 7. Spektrofotometri UV-Vis

Lampiran 5. Sertifikat analisis fosfatidilkolin

Certificate of Analysis		
SIGMA-ALDRICH		
Product Name	L- α -Phosphatidylcholine, from soybean, Type IV-S, $\geq 30\%$ (TLC)	
Product Number	P3644	
Product Brand	SIGMA	
CAS Number	8002-43-5	
TEST	SPECIFICATION	LOT 080m7014v RESULTS
Appearance (Color)	Yellow to Orange	Dark Yellow
Appearance (Form)	Solid waxy	Solid
Solubility (Color)	Yellow to Orange	Yellow-Orange
Solubility (Turbidity)	Clear to Slightly Hazy 100 mg/mL, CHCl ₃	Clear
Phosphatidylcholine Content	$\geq 30\%$ By TLC	37%
 Rodney Burbach, Manager Quality Control St. Louis, Missouri USA		

Lampiran 6. Sertifikat analisis kolesterol

SIGMA-ALDRICH		SIGMA	
		Riedstrasse 2, D-89555 Steinheim/Germany Tel: +49 73 2997 2550 Fax: +49 73 2997 2557	
Certificate of Analysis			
Product Name:	CHOLESTEROL		
	95 %		
Product Number:	C75209		
Product Brand:	Sigma		
Molecular Formula:	C ₂₇ H ₄₆ O		
Molecular Mass:	386.65		
CAS Number:	57-88-5		
TEST	SPECIFICATION	LOT STBB5512 RESULTS	
APPEARANCE (COLOR)	WHITE	WHITE	
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER	
PURITY (GC AREA %)	≥ 94.0 %	94.1 %	
OPTICAL ROTATION	-39 ± 6 DEGREES	-37 DEGREES	
CONCENTRATION	C=2% DIOXANE	2% IN DIOXAN	
SOLUBILITY (COLOR)	COLORLESS TO PALE YELLOW	COLORLESS	
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR TO SLIGHTLY HAZY	CLEAR	
SOLUBILITY (METHOD)	1G/4.5ML, CHCL3	1G/4.5ML, CHCL3	
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS	
QC RELEASE DATE	22/JUN/10		
 Claudia Mayer, Manager Quality Control Steinheim, Germany			
<p style="font-size: small;">Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.</p>			
Sigma-Aldrich		Certificate of Analysis - Product C75209 Lot STBB5512	
		Page 1 of 1	

Lampiran 7. Sertifikat analisis asam oleat


CERTIFICATE OF ANALYSIS

MARKS & NOS. INVOICE NO.:2011JT5010B
 N/M DATE:MAR 15,2011

OLEIC ACID RICE BRAN

ITEMS	SPECS	RESULT
TITER TEST	8° C max	8° C
IODINE VALUE	110-125gI ₂ /100g	118.5gI ₂ /100g
ACID VALUE	190-202mgkoH/g	196mgkoH/g
COLOR		4#
MOISTURE	0.5% max	0.5% max
SAPONIFICATION	190-205mgkoH/g	195
BATCH NUMBER	(28.8MTS)	Y-8-110306
PRODUCTION DATE		MAR 15,2011
CONCLUSION		ACCORDING

Lampiran 8. Sertifikat analisis spiramisin



Plant Bandung **LAPORAN ANALISA BAHAN BAKU**

Nama Bahan Baku : SPYRAMYCINUM	No. Batch :25.052 Exp. Date :04/2012	Kode : F-SS-BB-00232/1/0 Tgl. Berlaku : 31 Juli 2006
--	---	---

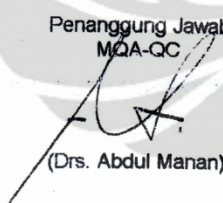
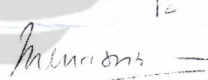
Kode bahan :3012147 Origin :SIMS - Italy LA :B50590 No. SP :P530307	Supplier :PT. Menjangan Sakti Tgl. Sampling :23-11-2008 Tgl. Selesai :01-12-2008	Jumlah :100 kg Pemeriksa :Rina RS No. BTBS :B50590
--	--	--

NO	PEMERIKSAAN	PERSYARATAN	HASIL
1	Pemerian (R)	Puder halus warna putih kekuningan, sedikit berbau, rasa pahit, agak higroskopis	Warna putih kekuning-kuningan
2	Identifikasi (R)	Serapan maksimum pada panjang gelombang 232 nm.	Sesuai
3	Kelarutan	Larut dalam 50 bagian air, mudah larut dalam acetone, metanol dan etanol	Sesuai
4	pH (R)	8,5 – 10,5 (larutan 0,5%)	9,32
5	Rotasi Jenis	Antara -80° dan -85°	-80,38
6	Logam Berat	Tidak lebih dari 20 bpj	Sesuai
7	Susut Pengeringan (R)	Tidak lebih dari 3,5%	1,10%
8	Kadar Abu Sulfat	Tidak lebih dari 0,1%	0,02%
9	Kadar (R)	Tidak kurang dari 3000 Unit/mg	3201,35 Unit/mg

Pustaka : DAB IX

Kesimpulan : Memenuhi syarat

Bandung, 01 Desember 2008

Penanggung Jawab : MQA-QC  (Drs. Abdul Manan)	AMLP  (Dra. Myrna S Nasution)
---	---

Halaman 1 dari 1

C:\SPBB\LA Bahan Baku\LA save BB\Tahun 2005\Spyramycinum - 00232 (0), LA B50590.doc

Jl. Pajajaran No. 29 - 31
 Bandung 40171
 Indonesia
 Telp. (022) 4204043, 4204044
 Fax. (022) 4237079, 4204662
 dnb@idola.net.id