



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506

## Stabilisasi Liposom dalam Sistem Penghantaran Obat

*Sausan Rihhadatulaisy\**, Sriwidodo, Norisca Aliza Putriana

Program Studi Sarjana, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran  
Jalan Raya Bandung Sumedang Km. 21 Jatinangor 45363

\*E-mail: [sausan16001@mail.unpad.ac.id](mailto:sausan16001@mail.unpad.ac.id)

(Submit 18/5/2020, Revisi 25/5/2020, Diterima 30/7/2020)

### Abstrak

Enkapsulasi obat dalam liposom telah memberikan peluang untuk meningkatkan terapeutik dan kestabilan pada berbagai senyawa aktif. Peran liposom sebagai sistem penghantaran obat adalah untuk memberikan obat dengan cara terkontrol, mengurangi toksisitas, dan meningkatkan kemanjuran obat yang dienkapsulasi. Meskipun liposom secara luas telah dipelajari dalam bidang farmasi, liposom memiliki masalah terkait dengan kestabilan, diantaranya partikel membentuk agregat, koalesensi, fusi, dan terjadinya kebocoran obat dalam vesikel yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti suhu, pH, muatan permukaan, maupun komposisi lipid. Maka dari itu, studi stabilitas fisik diperlukan untuk menjamin integritas produk. Dari hasil *review* artikel dengan metode pencarian studi pustaka pada beberapa jurnal, didapatkan teknik untuk menjaga stabilitas liposom diantaranya, aktivasi tepi dengan surfaktan seperti tween dan polietilen glikol, modifikasi permukaan liposom dengan kitosan, polisakarida, dan polielektrolit, pengeringan beku, serta penggabungan dengan polimer gel. Oleh karena itu, artikel ini dimaksudkan untuk membahas mengenai stabilisasi liposom dan berbagai parameter karakterisasi diantaranya, ukuran partikel, efisiensi penjerapan, muatan dan morfologi permukaan sebagai tolak ukur untuk stabilitas liposom.

**Kata kunci:** Liposom, stabilitas, karakterisasi, dan penghantaran obat.

### Outline

- Pendahuluan
- Metode
- Hasil dan Pembahasan
- Kesimpulan
- Daftar Pustaka

### Pendahuluan

Liposom dianggap sebagai model ideal yang dapat meniru membran biologis, sehingga dapat digunakan untuk menghantarkan obat maupun senyawa aktif lainnya.<sup>1,2</sup> Selama lima dekade terakhir, liposom telah secara luas menjadi perhatian sebagai sistem penghantaran untuk terapi senyawa aktif dalam banyak disiplin ilmu dan penerapannya dalam bidang farmasi, kosmetik, dan industri makanan sebagai terobosan produk baru yang menjanjikan.<sup>3</sup>

Liposom memiliki beberapa kelebihan yaitu mampu menggabungkan senyawa hidrofilik dan hidrofobik dari obat-obatan, biokompatibilitas yang baik, toksisitas rendah, meningkatkan efikasi dan indeks terapi, serta meningkatkan stabilitas obat dengan sistem enkapsulasi.<sup>4,5</sup>

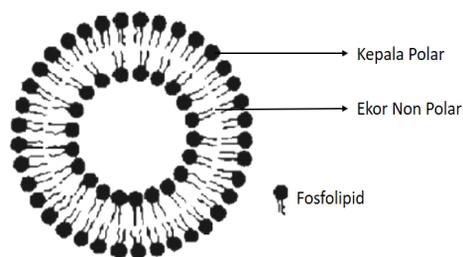
Meskipun liposom telah dipelajari secara luas sebagai sistem penghantaran senyawa aktif, dalam bidang farmasi, liposom memiliki beberapa kelemahan, yaitu degradasi yang cepat dan ketidakmampuan untuk mencapai pemberian obat secara berkelanjutan. Selain itu, sistem berbasis liposom diketahui memiliki keterbatasan seperti ketidakstabilan akibat adanya perubahan suhu dan pH, muatan permukaan, maupun komposisi lipid<sup>6</sup> Liposom memiliki masalah terkait kestabilan yaitu dapat terjadinya kerusakan pada penyimpanan yang menyebabkan kebocoran obat dari vesikel.<sup>3</sup>

Stabilitas liposom merupakan pertimbangan utama untuk langkah-langkah produksi dan administrasi. Bentuk sediaan farmasi yang stabil harus dapat mempertahankan integritas fisik dan tidak mempengaruhi integritas kimia dari bahan aktif. Studi stabilitas harus mencakup bagian karakterisasi dan stabilitas selama penyimpanan.<sup>3</sup> Maka dalam artikel ini mengkaji parameter karakterisasi seperti ukuran partikel, efisiensi penjerapan, muatan dan morfologi permukaan dengan berbagai cara untuk mengatasi kestabilannya yaitu aktivasi tepi dengan surfaktan, modifikasi permukaan liposom, pengeringan beku, dan penggabungan dengan polimer gel.

## Metode

Dalam penulisan *review* artikel ini, digunakan metode studi pustaka pada beberapa jurnal internasional yang diperoleh dari *Google Scholar* dan situs penyedia jurnal *online* seperti *PubMed*. Pencarian pustaka dilakukan dengan beberapa kata kunci seperti “*Stability of liposome*”, “*Characterization of liposome*”, serta “*Drug delivery system*”. Kriteria inklusi yang ditetapkan yaitu jurnal internasional mengenai liposom dengan publikasi dua puluh tahun terakhir dan kriteria eksklusi yaitu jurnal mengenai liposom di luar bidang farmasi. Dari beberapa artikel yang diperoleh, dipilih 49 artikel yang sesuai dengan tema.

## Proses pembentukan liposom



Gambar 1. Potongan melintang liposom.

Liposom adalah sistem penghantaran obat berbentuk vesikel *spheric* yang terdiri atas membran fosfolipid bilayer dengan bagian kepala polar atau hidrofilik dan ekor non polar atau hidrofobik yang dapat dilihat pada Gambar 1.

Proses pembentukan liposom terjadi secara spontan yaitu ketika fosfolipid lapis tipis terhidrasi dalam medium buffer atau akuos, air akan masuk diantara bilayer-bilayer dalam fosfolipid sehingga luas permukaan bilayer tersebut akan naik kemudian mengembang serta membentuk benjolan-benjolan yang mengandung air, benjolan tersebut akan segera terpisah dan membentuk multilamellar liposom ketika diberi energi berupa pengocokan. Proses pembentukan liposom ini terjadi karena adanya gaya tolakan sterik dan van der Waals. Untuk mengubah bentuk liposom multilamellar menjadi unimellar liposom diperlukan pemberian energi berupa ekstrusi maupun sonikasi.<sup>7</sup>

### Faktor Pengaruh Kestabilan Liposom

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan liposom diantaranya suhu dan pH. Dilaporkan bahwa pH dan suhu mempengaruhi tingkat hidrolisis fosfolipid pada masa penyimpanan. Ketika liposom dipreparasi dalam medium, komponen liposom berusaha untuk menyeimbangkan energi yang diperoleh dengan membentuk struktur yang sesuai. Ketika kontak pada pH tertentu, struktur fosfolipid akan terprotonisasi sehingga dapat menginisiasi pemecahan struktur fosfolipid karena menurunnya kekuatan antar ikatan, hal tersebut juga bergantung pada komposisi lipid.<sup>8</sup> Disisi lain, pada kondisi suhu yang meningkat, interaksi asosiatif antara molekul fosfolipid menurun, sehingga mengakibatkan fluidisasi membran. Dengan meningkatnya suhu, rantai hidrokarbon dari bilayer menjadi acak, sehingga mengurangi kekakuan membran dan membentuk kerusakan seperti pori atau *disk bilayer*. Hal ini pada akhirnya mengurangi stabilitas obat yang tersalut dalam liposom.<sup>9</sup> Faktor lain seperti, muatan permukaan liposom juga mempengaruhi kestabilan liposom.<sup>10</sup> Maka dari itu, diperlukan beberapa teknik seperti aktivasi tepi dengan surfaktan, pengeringan beku, modifikasi permukaan dengan kitosan, dan penggabungan dengan polimer gel untuk menjaga kestabilan liposom.

### Stabilisasi Liposom

Agar produk farmasi dapat bertahan di pasaran, produk tersebut harus memiliki kemampuan dalam menjaga sifat fisikokimianya selama penyimpanan. Liposom dapat terdegradasi secara kimia melalui oksidasi dan hidrolisis. Sedangkan degradasi fisika sering dikaitkan dengan perubahan struktur liposom. Terdapat beberapa metode untuk menjaga stabilitas liposom diantaranya metode pengeringan beku yang dapat meningkatkan masa simpan liposom, penambahan bahan lain seperti surfaktan, modifikasi dengan kitosan, dan polimer gel khusus untuk sediaan topikal.<sup>11,12</sup>

### Aktivasi Tepi dengan Surfaktan

Surfaktan digunakan sebagai aktivator tepi untuk meningkatkan stabilitas liposom. Dilaporkan bahwa jika rantai alkil dan gugus polietilena hadir pada permukaan vesikel, maka rantai hidrokarbon surfaktan dapat menembus ke dalam lapisan ganda fosfolipid, sehingga menghasilkan stabilisasi sterik, yang dapat menurunkan fusi vesikel. Selain itu, kecenderungan surfaktan untuk membentuk struktur misel dapat mengurangi energi yang diperlukan untuk deformasi globul.<sup>[11]</sup> Penggunaan surfaktan membuat liposom menjadi fleksibel, sehingga vesikel memiliki kemampuan untuk melintasi pori-pori yang berukuran lebih kecil dari ukurannya dibandingkan liposom konvensional.<sup>[23]</sup>

Tabel 1. Berbagai Penelitian dengan Sistem Penghantaran Liposom

Zat Aktif	Masalah Zat Aktif	Aktivitas Biologis	Metode Stabilisasi	Stabilikator	Ref.
Epidermal growth factor (EGF)	Mudah terdegradasi	Penyembuhan luka	Modifikasi permukaan liposom	Polisakarida xanthan dan galactomannan	[1]
Epidermal growth factor (EGF)	Mudah terdegradasi	Penyembuhan luka	Modifikasi permukaan liposom	Kitosan	[2]
Human epidermal growth factor (hEGF)	Bioavailabilitas buruk	Pengobatan tukak lambung	Aktivasi tepi dengan surfaktan	Polietilen glikol (PEG)	[3]
Neuropeptida	Waktu paruh pendek	Penyembuhan luka	Modifikasi permukaan liposom	Kitosan	[13]
Budesonid	Waktu paruh pendek	Pengobatan asma	Pengeringan beku	Trehalosa sebagai krioprotektan	[14]
Mupirosin	Waktu paruh pendek	Penyembuhan luka	Modifikasi permukaan liposom	Kitosan	[15]
Amfoterisin	Efek samping toksik	Anti jamur	Penggabungan dengan polimer gel	Gel poloksamer	[16]
Ketorolac tromethamine	Waktu paruh pendek	Analgesik	Aktivasi tepi dengan surfaktan	Tween 80	[17]
Flukonazol	Waktu paruh pendek	Anti jamur	Pengeringan beku	Trehalosa sebagai krioprotektan	[18]
Resveratrol	Waktu paruh pendek dan kelarutan dalam air buruk	Anti kanker	Aktivasi tepi dengan surfaktan	Polietilen glikol	[19]
Insulin	Permeabilitas rendah	Antidiabetes	Modifikasi permukaan liposom, pengeringan beku	Polielektrolit, trehalosa sebagai krioprotektan	[20]
Docetaxel	Kelarutan dalam air buruk	Anti kanker	Modifikasi permukaan liposom, aktivasi tepi dengan surfaktan	Kitosan, tween 80	[21]
Triazavirin	Waktu partuh pendek	Anti virus	Modifikasi permukaan liposom	Kitosan	[22]

Penggunaan PEG sebagai surfaktan berpartisipasi dalam formasi vesikel, bagian hidrofobik akan mengatur bersama dengan fosfolipid sebagai bagian integral dari lapisan ganda fosfolipid dan rantai PEG mengelilingi permukaan memberikan stabilisasi sterik yang efektif. Penambahan PEG dapat menghasilkan vesikel dengan ukuran dan homogenitas yang optimal.<sup>24-26</sup> Dilaporkan bahwa liposom yang dimodifikasi dengan PEG, selama masa penyimpanan dua bulan pada suhu 4 – 8 °C, tidak menunjukkan perubahan fisik, sedangkan liposom konvensional menunjukkan agregasi dan presipitasi progresif. Selain itu, efisiensi penyerapan untuk liposom yang dimodifikasi PEG tidak berkurang secara signifikan selama penyimpanan dua bulan, tanpa tanda-tanda degradasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa surfaktan PEG memfasilitasi pelarutan senyawa aktif lipofilik dan dengan demikian pemuatannya dalam vesikel atau efisiensi penyerapannya lebih tinggi. PEG juga memainkan peran penting dalam mengendalikan laju pelepasan.<sup>19</sup>

Penggunaan tween 80 sebagai stabilisator juga dapat memaksimalkan pemuatan obat dan meminimalkan kebocoran serta pembersihan yang cepat dari tubuh. Tween cenderung membentuk struktur yang sangat melengkung (misel), sehingga mengurangi energi yang diperlukan untuk deformasi globul.<sup>11</sup> Namun, setelah uji stabilitas selama 9 minggu pada suhu 37 °C, tetap terjadi peningkatan ukuran partikel dan agregasi yang terlihat pada suspensi tetapi peningkatan ukuran partikel dan agregasi tidak seburuk liposom tanpa surfaktan.<sup>14</sup> Penggunaan surfaktan tween 80 menyebabkan liposom lebih stabil tanpa perubahan signifikan dalam ukuran vesikel dan potensial zeta setelah satu tahun penyimpanan pada 4°C tetapi kandungan obat turun.<sup>17</sup> Dilaporkan bahwa efisiensi penyerapan menurun ketika proporsi surfaktan meningkat dan elastisitas berkurang dengan proporsi surfaktan yang lebih rendah dan didapatkan rasio molar terbaik fosfolipid : surfaktan (86:14). Dalam hal ini, metode pengeringan beku menjadi solusi untuk penyimpanan liposom untuk menghindari agregasi dan kebocoran obat.<sup>17</sup>

### Pengeringan Beku

Formulasi liposom, seperti AmbiSome<sup>®</sup> dan Doxil<sup>®</sup> tersedia secara komersial. Namun, potensinya sebagai agen terapi masih memiliki keterbatasan fisik dan kimia selama masa penyimpanan dalam dispersi air seperti terjadinya hidrolisis, oksidasi fosfolipid, kebocoran, dan agregasi. Salah satu metode stabilisasi liposom yang telah diselidiki yaitu liofilisasi atau metode pengeringan beku.<sup>27,28</sup>

Pengeringan beku merupakan metode yang dapat digunakan untuk menstabilkan sistem koloid. Namun, kebocoran obat yang terperangkap dapat terjadi selama proses pengeringan beku.<sup>29</sup> Maka dari itu, proses pengeringan beku diperlukan suatu krioprotektan untuk melindungi sistem liposom dari agregasi dan penggabungan ukuran partikel. Krioprotektan yang biasa digunakan adalah karbohidrat seperti sakarosa, manitol, laktosa, dan trehalosa.<sup>30</sup> Pengeringan beku melibatkan penghilangan air dari produk dalam keadaan beku pada tekanan rendah, proses ini biasanya digunakan untuk mengeringkan produk yang termolabil. Metode ini dapat mengatasi kesulitan stabilitas liposom dalam jangka panjang dengan menyimpannya dalam keadaan kering.<sup>18,29</sup>

Untuk meningkatkan umur simpan dari liposom berisi obat, digunakan metode pengeringan beku dengan menggunakan trehalosa sebagai krioprotektan.<sup>14,18</sup> Stabilitas liposom kering beku dan liposom dalam dispersi air dari liposom budesonide dinilai pada kondisi suhu 2-8 °C dan 28 ± 4 °C selama periode enam bulan yang dihasilkan bahwa kebocoran obat secara signifikan lebih sedikit pada liposom kering beku dibandingkan dengan liposom yang terdispersi air. Kebocoran obat tersebut sesuai dengan peningkatan ukuran partikel dimana liposom yang terdispersi cenderung membentuk vesikel besar melalui koalesensi sedangkan liposom kering beku tidak menunjukkan kristal obat.<sup>14</sup> Krioprotektan trehalosa lebih efektif daripada gula lain dalam mencegah fusi dan kebocoran obat dimana trehalosa memiliki kemampuan untuk mempertahankan membran biologis tanpa adanya air. Kehadiran trehalosa selama proses pengeringan mempertahankan struktur liposom yang berisi obat dalam keadaan anhidrat dengan mengganti molekul air yang biasanya terikat pada kelompok kepala lipid.<sup>18</sup>

### Modifikasi Permukaan Liposom

Modifikasi permukaan liposom dengan kitosan, efisien untuk menjebak obat yang mengarah ke peningkatan bioavailabilitas.<sup>31</sup> Kitosan digunakan sebagai pendamping liposom untuk mengatur karakteristik permukaan dengan kapasitas muatan besar. Kitosan polikationik digunakan untuk membentuk lapisan positif di sekitar liposom yang bermuatan negatif melalui adsorpsi permukaan dengan interaksi elektrostatik. [32] Ditemukan bahwa lapisan kitosan meningkatkan stabilitas liposom dalam kondisi fisiologis dan memodifikasi pelepasan protein dan peptida terapeutik secara terprogram. Dimana liposom kitosan memiliki PI (indeks polidispersitas) rendah yang menunjukkan diagnostik dari monodispersi, distribusi ukuran monomodal dan mengkonfirmasi ukuran liposom yang seragam. Liposom berlapis kitosan juga menghasilkan jendela terapi yang lebih luas dan kemanjuran yang lebih baik dikarenakan pelepasan obat yang lebih lama dan berkelanjutan.<sup>13</sup> Selain itu, kitosan dapat meningkatkan daya tolak interaksi antara liposom, sehingga mencegah partikel dari flokulasi.<sup>11</sup>

Pada penelitian Hurler *et al.*, 2012, pengujian stabilitas liposom kitosan dilakukan pada kondisi penyimpanan dingin 4 °– 8 °C dan pengujian stabilitas dipercepat pada suhu 40 °C selama satu bulan. Pada kondisi penyimpanan selama 48 jam di suhu 4 °C – 8 °C tidak ditemukan presipitasi obat. Namun, pada suhu 40 °C, terjadi peningkatan diameter vesikel liposom sekitar 15% – 20% dari ukuran aslinya dan peningkatan kecil dalam indeks polidispersitas. Hal tersebut menunjukkan bahwa vesikel cenderung menggumpal dalam kondisi paksa seperti suhu dari 40 °C.<sup>15</sup> Penggunaan kitosan pada liposom dapat menurunkan efisiensi penjerapan pada senyawa bermuatan positif karena kitosan dan senyawa bermuatan positif bersaing untuk fosfolipid yang bermuatan negatif.<sup>13</sup> Maka dari itu, selain memodifikasi liposom dengan kitosan dapat juga dengan cara penggabungan liposom dalam matriks hidrogel khusus untuk obat topikal sehingga mampu memberikan perlindungan vesikel dan mengurangi terjadinya kebocoran obat dalam liposom.<sup>15</sup> Selain penggunaan kitosan dalam meningkatkan stabilitas liposom, terdapat berbagai jenis polisakarida biokompatibel yaitu asam alginat atau kondroitin sulfat dapat digunakan untuk meningkatkan efisiensi liposom konvensional.<sup>33</sup>

Selain modifikasi dengan kitosan, dilaporkan juga bahwa, polisakarida xanthan dan galactomannan dapat meningkatkan stabilitas liposom yang berisikan EGF dengan cara lapisan demi lapisan membentuk lapisan polimer pada sistem dua dimensi dan tiga dimensi pada liposom. Teknik ini terdiri dari endapan bolak-balik dari polycations dan polyanions, menghasilkan lapisan multilayer, tetapi tidak secara eksklusif, oleh interaksi elektrostatis atau ikatan hidrogen, ikatan kovalen, interaksi hidrofobik, dan gaya van der Waals. Dilaporkan, liposom dengan polisakarida ini memiliki biokompatibilitas dan profil pelepasan EGF yang baik.<sup>1</sup>

### Penggabungan dengan Polimer Gel

Gel poloksamer dilaporkan dapat mencegah kebocoran obat dari situs administrasi yang dapat mengurangi efek terapeutik. Penggunaan gel poloksamer, dapat mempertahankan struktur liposom dengan menjebakannya ke dalam gel melalui tarikan elektrostatis, dibandingkan dengan liposom tanpa gel poloksamer yang memuat amfoterisin tidak dapat mempertahankan bentuk dan struktur liposom yang diamati oleh SEM ((*Scanning Electron Microscopy*). Liposom dalam gel poloksamer mempertahankan bentuk partikel bulat karena properti higroskopis dari fosfolipid.<sup>[16]</sup> Selain itu, stabilitas liposom mengandung amfoterisin tanpa poloxomer yang dilihat melalui perubahan ukuran partikel dan potensial zeta dihasilkan bahwa keduanya meningkat dan pemuatan obat menurun dari waktu ke waktu karena agregasi atau fusi vesikel dan kohesi. Begitu pula dengan stabilitas yang dapat dilihat secara visual bahwa terjadi kekeruhan supernatan yang diamati setelah dua minggu. Masalah stabilitas yang masih terjadi dapat diatasi dengan liofilisasi di mana produk liposom akhir dikering-bekukan dengan krioprotektan dan dilarutkan segera sebelum administrasi.<sup>14</sup>

Polimer lain seperti karbomer menunjukkan bahwa karbomer mengubah viskositas, namun tidak merusak struktur liposom, tetapi meningkatkan stabilitas fisik liposom. Oleh karena itu, disarankan untuk memasukkan liposom ke dalam sistem gel, terutama gel yang dibuat dengan resin karbomer. Telah dilaporkan bahwa liposom cukup kompatibel dengan gel yang terbuat dari polimer yang berasal dari poli ikatan silang (asam akrilat), seperti resin Carpool®. Penggabungan liposom dalam gel karbomer menunjukkan stabilitas yang lebih baik untuk sistem pengiriman obat topikal. Untuk mengetahui apakah metode-metode tersebut sudah dapat menjaga kestabilan liposom, diperlukan karakterisasi sebagai parameter kestabilannya.<sup>34</sup>

### Karakterisasi Liposom

Kemanjuran terapeutik dari molekul obat diatur oleh stabilitas liposom yang melibatkan langkah-langkah pembuatan, penyimpanan, dan distribusi. Studi stabilitas, salah satunya evaluasi parameter fisik yang menjamin integritas produk selama penyimpanan.<sup>35</sup> Beberapa kelemahan liposom yang telah disebutkan dan berbagai tantangan yang masih ada pada sebagian besar metode persiapan adalah kontrol atas ukuran, polidispersitas, dan efisiensi penjerapan. Maka dari itu, penting untuk mengkarakterisasi secara fisik sistem liposom. Parameter fisik perlu dipantau agar bisa memastikan bahwa persiapan liposom dapat diproduksi dan mengoptimalkan fungsinya.<sup>36</sup>

Parameter fisik liposom didasarkan pada pengukuran bentuk vesikel, morfologi permukaan, ukuran rata-rata vesikel dan distribusi ukuran partikel, muatan permukaan, serta penyerapan obat yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter dan Metode Karakterisasi Sistem Penghantaran Liposom

Senyawa aktif	Parameter	Metode	Ref
Human epidermal growth factor (hEGF)	Efisiensi penyerapan; ukuran dan ukuran partikel	HPLC; dynamic light scattering	[3]
Neuropeptida	Efisiensi penyerapan; ukuran dan distribusi ukuran partikel; muatan permukaan	HPLC; dynamic light scattering	[13]
Amfoterisin	Efisiensi penyerapan; ukuran partikel; morfologi permukaan; muatan permukaan	Spectrophotometer UV Vis; scanning electron microscopy; light scattering spectrophotometer	[16]
Resveratrol	Efisiensi penyerapan; morfologi permukaan; ukuran partikel; muatan permukaan	HPLC ; transmission electron microscopy; dynamic light scattering	[19]
Insulin	Efisiensi penyerapan; morfologi permukaan; ukuran dan distribusi ukuran partikel; muatan permukaan	HPLC; transmission electron microscopy, scanning electron microscopy, atomic force microscopy; dynamic light scattering	[20]
Docetaxel	Efisiensi penyerapan; morfologi permukaan; ukuran dan distribusi ukuran partikel; muatan permukaan	HPLC; transmission electron microscopy; dynamic light scattering	[21]
Tiazavirin	Efisiensi penyerapan; ukuran dan distribusi ukuran partikel; muatan permukaan liposom	HPLC; dynamic light scattering	[22]

Berdasarkan yang ditunjukkan pada Tabel 2 dan Tabel 3 metode aktivasi tepi dengan surfaktan tween dan polietilenglikol serta modifikasi permukaan liposom dengan kitosan dan polielektrolit yang dilihat dari hasil parameter-parameter karakterisasi seperti ukuran dan distribusi ukuran partikel, efisiensi penyerapan obat, muatan dan morfologi permukaan liposom dapat meningkatkan kestabilan liposom yang berisikan senyawa aktif.

Tabel 3. Hasil Karakterisasi Sistem Penghantaran Liposom

Senyawa Aktif	Komposisi Membran Liposom	Ukuran Partikel	PI	Zeta potensial	Efisiensi Penjerapan	Studi Detail	Ref.
Human epidermal growth factor (hEGF)	Fosfatidilkolin:kolesterol: fosfatidiletanol amin: PEG: (10:5:1:1) rasio molar	286,4→ 306,1 nm	-	-	8,3±0,3→ 18,5 ± 1,4%	→efek aktivasi tepi dengan surfaktan poli etilen glikol dan komposisi membran	[3]
Neuro-peptida	Lesitin: kolesterol: kitosan (20: 3,3: 1) b/v	151±27→ 243±24 nm	0,2±0,06→ 0,3±0,1	-49±2,5→ 32±1,0 mV	81,3±6→ 66±3,5%	→efek modifikasi kitosan, komposisi lipid, muatan obat	[3]
Amfoterisin	Trimetilamin: fosfoetanol-amin: kolesterol (5: 4: 1) rasio molar	233,5±14,6 →465,2± 15,9 nm	-	46,9±5,4→ 42,9±7,6 mV	1,17±0,38→ 60,53±2,8%	→ efek larutan hidrasi sukrosa 9% meningkat kan efisiensi penjerapan	[16]
Resveratrol	Fosfatidilkolin: PEG (90: 9) b/v	71±27,8→ 86±2,7 nm	0,41±0,07→ 0,20±0,03	-25±1,9→ -21±4,1 mV	87,9±6,7→ 94,9±2,9%	→efek aktivasi tepi dengan surfaktan polietilen glikol	[19]
Insulin	Fosfatidilkolin, kolesterol, polielektrolit	228,6±15,7 →254,6±8,6 nm	0,253±0,04 →0,231± 0,03	34,9±2,5→ 33,6±2,1 mV	88,2±2,3→ 93,6±2,6 %	→efek modifikasi permukaan dengan polielektrolit	[20]
Docetaxel	Fosfatidilkolin: kolesterol: tween 80: kitosan (0,9: 0,3: 0,1:0,5) rasio molar	328,6±9,1→ 218,9±4,3 nm	0,581±0,06 →0,251± 0,042	9,67±1,56→ 14,74±2,49 mV	76,5±3,4→ 86,9±8,1%	→efek aktivasi tepi dengan surfaktan tween 80 dan modifikasi permukaan dengan kitosan	[21]
Triazavirin	Fosfatidilkolin: palmitokolin: metil palmitat: tokoferil asetat (75: 8,6: 6,4: 5: 5) b/v	148±3→ 188±3 nm	0,14 → 0,16	35,1±2,4→ 20,4±3,1 mV	77,9±1,8%	→efek modifikasi kitosan dan komposisi membran	[22]

### Ukuran dan Distribusi Ukuran Partikel

Stabilitas liposom tergantung pada penyediaan ukuran yang konstan dan distribusi ukuran pada masa penyimpanan.<sup>37</sup> Liposom memiliki ukuran 30 nm hingga beberapa mikrometer.<sup>[38]</sup> Seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 2** dalam menentukan ukuran dan distribusi ukuran partikel digunakan teknik hamburan cahaya yang memiliki kelebihan yaitu kemudahan dan kecepatan dalam pengukuran, teknik ini biasa diukur dengan instrumen *particle size analyzer*.<sup>39</sup>

Ditunjukkan pada Tabel 3 penggunaan surfaktan tween, propilen glikol, dan modifikasi dengan polielektrolit dapat mengurangi ukuran partikel dan meningkatkan homogenitas dengan nilai indeks polidispersitas kecil. Peningkatan dalam ukuran partikel liposom yang berisi obat dibandingkan dengan liposom kosong dapat dikaitkan dengan properti amfifilik yang dapat dimasukkan ke dalam lipid lamellar. Berbagai macam kondisi telah dilaporkan mempengaruhi ukuran partikel diantaranya waktu sonikasi dan siklus ekstruksi.<sup>15-17,38</sup>

Dilaporkan bahwa ukuran vesikel liposom menurun seiring dengan meningkatnya waktu sonikasi dan siklus ekstruksi.<sup>17</sup> Namun, siklus ekstruksi tidak berpengaruh secara signifikan pada ukuran partikel dan potensial zeta dari liposom berisi bahan aktif. Dari hasil ini, kondisi liposom dioptimalkan sebagai sonikasi selama 90 menit dan ekstruksi tiga siklus.<sup>[16]</sup> Berbeda dengan penelitian Ternullo *et al.*, 2018, bahwa ekstruksi liposom yang mengandung senyawa hidrofilik menghasilkan distribusi ukuran homogen dan pengurangan ukuran liposom dengan indeks polidispersitas yang rendah.<sup>[37]</sup> Peningkatan ukuran partikel juga dapat disebabkan karena suhu penyimpanan yang tidak sesuai atau tidak stabil sehingga menyebabkan partikel membentuk agregat. Indeks polidispersitas merupakan indikator distribusi ukuran partikel, nilai PI (indeks polidispersitas) mendekati nol menunjukkan sistem monodispersi dan nilai PI mendekati 1,0 yang menunjukkan bahwa distribusi ukuran yang sangat luas.<sup>40,41</sup>

### Efisiensi Penjerapan

Efisiensi penjerapan merupakan parameter penting dalam mengembangkan pengiriman berbasis liposom. Efisiensi penjerapan yang tinggi dapat mengurangi biaya dan meningkatkan kemanjuran.<sup>42</sup> Untuk menentukan efisiensi penjerapan dalam liposom, obat bebas dipisahkan dari liposom. Metode pemisahan yang biasa digunakan yaitu metode sentrifugas<sup>1,2,14,17,31</sup> atau ultrasentrifugasi<sup>21,43</sup> dan metode dialisis.<sup>[44]</sup> Kemudian efisiensi penjerapan diukur dengan berbagai instrumen seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2 yaitu *HPLC*, spektrofotometer UV, dan spektrofotometer UV Vis.

Aktivasi tepi dengan surfaktan tween dan polietilen glikol dapat meningkatkan efisiensi penjerapan yang ditunjukkan pada Tabel 3. Efisiensi penjerapan juga dapat dipengaruhi oleh larutan yang digunakan untuk hidrasi, rasio obat dengan lipid selama preparasi, dan waktu sonikasi. Efisiensi penjerapan AmB meningkat dengan rasio berat awal AmB terhadap lipid dari 1: 7 , 1:10, hingga 1:20 rasio molar. Pelarut untuk hidrasi juga mempengaruhi, dimana pada penelitian Kang *et al.*, 2010, digunakan dua perbandingan penggunaan pelarut yaitu sukrosa 9% dan larutan elektrolit buffer fosfat yang menghasilkan bahwa tinggi efisiensi penjerapan amfoterisin (50-60%). Namun, hidrasi dengan larutan elektrolit buffer fosfat dalam liposom mengakibatkan enkapsulasi amfoterisin rendah (<1-2%). Dilaporkan waktu sonikasi panjang mengurangi efisiensi penjerapan.<sup>[16]</sup> Selain itu, pengaruh suhu tinggi menyebabkan agregasi serta kebocoran obat dari formulasi liposom budesonid.<sup>14</sup>

### Muatan Permukaan

Parameter lain dalam karakterisasi liposom yaitu muatan permukaan liposom yang diukur dengan potensial zeta. Potensial zeta mengindikasikan muatan partikel dalam medium spesifik dan besarnya gaya tolak antar muatan partikel yang sama dan berdekatan.<sup>[45]</sup> Nilai potensial zeta yang lebih tinggi menunjukkan stabilitas koloid dan dapat menghambat agregasi formulasi liposom sehingga partikel lebih stabil. Liposom dengan zeta potensial di atas 30 mV baik positif maupun negatif telah terbukti stabil dalam suspensi sebagai muatan permukaan yang dapat mencegah agregasi partikel karena gaya tolak-menolak dan adanya stabilisasi secara elektrik dari dispersi partikel

Namun, apabila nilai potensial zeta dari suatu partikel terlalu kecil, akan terjadi gaya tarik-menarik yang lebih besar dibandingkan gaya tolak-menolak sehingga menyebabkan terjadinya koagulasi dan flokulasi yang menunjukkan ketidakstabilan koloid.<sup>46,47</sup>

Setiap liposom membawa muatan, negatif, positif, atau netral, tergantung pada komposisinya dan ligan yang terkait. Kitosan merupakan salah satu substrat untuk elektrostatik deposisi karena bermuatan positif dan dengan demikian dapat terikat secara elektrostatik ke permukaan liposom yang bermuatan negatif, endapan elektrostatik dari kitosan ke liposom meningkatkan muatan liposom dari negatif menjadi positif seperti pada Tabel 3. Penggabungan komponen bermuatan dalam membran liposom diketahui mengurangi kecenderungan agregasi karena elektrostatik tolakan antar partikel.<sup>48</sup>

### Morfologi Permukaan

Parameter lain dalam karakterisasi liposom yaitu memvisualisasikan morfologi partikel menggunakan mikroskop. Morfologi obat dalam liposom penting karena memengaruhi stabilitas dan kinetika pelepasannya.<sup>19</sup> Terdapat sejumlah teknik untuk pencitraan liposom yang dikategorikan ke dalam cahaya, elektron, atau mikroskop kekuatan atom. Dalam memvisualisasikan morfologi liposom biasa digunakan mikroskop elektron seperti *transmission electron microscopy* (TEM) yang memberikan informasi mengenai pandangan morfologi dan dapat melihat partikel dengan ukuran yang bervariasi, homogenitas, dan struktur permukaan, tetapi memiliki beberapa kelemahan diantaranya vesikel bersentuhan langsung dengan *grid* yang mungkin dapat mempengaruhi orientasi dan morfologi liposom, menempatkan sampel di bawah vakum dapat menyebabkan dehidrasi sampel.<sup>24,21</sup> Selain TEM, dalam memvisualisasikan liposom dapat digunakan *scanning electron microscopy* (SEM)<sup>21,32</sup> yang memberikan informasi umum mengenai ukuran dan morfologi vesikel, namun memiliki kekurangan yaitu tidak dapat memberikan informasi terperinci mengenai lamellaritas dan struktur internal vesikel, dan struktur liposom dapat mengalami gangguan karena diperlukan kondisi vakum tinggi.<sup>49</sup>

### Kesimpulan

Liposom sebagai sistem penghantaran obat memiliki masalah dalam hal stabilitas diantaranya kerusakan pada penyimpanan yang menyebabkan kebocoran obat dari vesikel yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti suhu, pH, muatan permukaan, maupun komposisi lipid. Masalah stabilitas diatasi dengan metode aktivasi tepi dengan surfaktan seperti tween dan polietilen glikol, modifikasi permukaan liposom dengan kitosan, polisakarida, dan polielektrolit, pengeringan beku, serta penggabungan dengan polimer gel. Dalam menilai kestabilan liposom dapat dilakukan beberapa karakterisasi seperti efisiensi penjerapan, ukuran dan distribusi partikel, morfologi permukaan, dan muatan permukaan liposom.

## Daftar Pustaka

1. Kaminski, G. A. T., Sierakowski, M. R., Pontarolo, R., Santos, L. A. dos, & Freitas, R. A. de. *Layer-by-layer polysaccharide-coated liposomes for sustained delivery of epidermal growth factor. Carbohydrate Polymers*. 2016;140, 129–135.
2. Degim, Z., Çelebi, N., Alemdaroğlu, C., Deveci, M., Öztürk, S., & Özoğul, C. Evaluation of chitosan gel containing liposome-loaded epidermal growth factor on burn wound healing. *International Wound Journal*. 2011; 8(4), 343–354.
3. Li, H. *Polyethylene glycol-coated liposomes for oral delivery of recombinant human epidermal growth factor. International Journal of Pharmaceutics*. 2003; 258(1-2), 11–19.
4. Mickova A, Buzgo M, Benada O, et al. Core/shell nanofibers with embedded liposomes as a drug delivery system. *Biomacromolecules*. 2012;13(4):952-962.
5. Pornpattananangkul D, Olson S, Aryal S, et al. Stimuli-responsive liposome fusion mediated by gold nanoparticles. *ACS Nano*. 2010;4(4):1935-1942.
6. Yaroslavov AA, Sybachin A V., Kesselman E, et al. Liposome fusion rates depend upon the conformation of polycation catalysts. *J Am Chem Soc*. 2011;133(9):2881-2883.
7. Lasic DD. The mechanism of vesicle formation. *J Biochem*. 1988; 256(1):1–11.
8. Roy, B., Guha, P., Bhattarai, R., Nahak, P., Karmakar, G., Chettri, P., et al. Influence of Lipid Composition, pH, and Temperature on Physicochemical Properties of Liposomes with Curcumin as Model Drug. *Journal of Oleo Science*. 2016; 65(5): 399–411.
9. Niu, Y., Wang, X., Chai, S., Chen, Z., An, X., & Shen, W. Effects of Curcumin Concentration and Temperature on the Spectroscopic Properties of Liposomal Curcumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012; 60(7): 1865–1870.
10. Toh, M.-R., & Chiu, G. N. C. Liposomes as sterile preparations and limitations of sterilisation techniques in liposomal manufacturing. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013; 8(2): 88–95.
11. Gibis, Monika., Rahn, Nina., Weiss, Jochen. Physical and Oxidative Stability of Uncoated and Chitosan-Coated Liposomes Containing Grape Seed Extract. *Pharmaceutics*, 2013; 5: 421-433.
12. Lee, D. E., Lew, M. G., & Woodbury, D. J. *Vesicle fusion to planar membranes is enhanced by cholesterol and low temperature. Chemistry and Physics of Lipids*. 2013; 166, 45–54.

13. Mengoni, T., Adrian, M., Pereira, S., Santos-Carballal, B., Kaiser, M., & Goycoolea, F. A Chitosan Based Liposome Formulation Enhances the In Vitro Wound Healing Efficacy of Substance P Neuropeptide. *Pharmaceutics*. 2017; 9(4): 56.
14. Parmar, J. J., Singh, D. J., Hegde, D. D., Lohade, A. A., Soni, P. S., Samad, A., et al. Development and evaluation of inhalational liposomal system of budesonide for better management of asthma. *Indian J. Pharm. Sci.* 2010; 72: 442–448.
15. Hurler, J., Berg, O. A., Skar, M., Conradi, A. H., Johnsen, P. J., & Škalko-Basnet, N. Improved Burns Therapy: Liposomes-in-Hydrogel Delivery System for Mupirocin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 101(10): 3906–3915.
16. Kang, J.-W., Davaa, E., Kim, Y.-T., & Park, J.-S. A new vaginal delivery system of amphotericin B: a dispersion of cationic liposomes in a thermosensitive gel. *Journal of Drug Targeting*. 2010; 18(8): 637–644.
17. Nava, G., Piñón, E., Mendoza, L., Mendoza, N., Quintanar, D., & Ganem, A. Formulation and in Vitro, ex Vivo and in Vivo Evaluation of Elastic Liposomes for Transdermal Delivery of Ketorolac Tromethamine. *Pharmaceutics*. 2011; 3(4): 954–970.
18. El-Nesr, O. H., Yahiya, S. A., & El-Gazayerly, O. N. Effect of formulation design and freeze-drying on properties of fluconazole multilamellar liposomes. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2010; 18(4): 217–224.
19. Caddeo, C., Pucci, L., Gabriele, M., Carbone, C., Fernández-Busquets, X., Valenti, D., ... Manconi, M. Stability, biocompatibility and antioxidant activity of PEG-modified liposomes containing resveratrol. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018; 538(1-2): 40-47.
20. Agrawal AK, Harde H, Thanki K, Jain S. Improved stability and antidiabetic potential of insulin containing folic acid functionalized polymer stabilized multilayered liposomes following oral administration. *Biomacromolecules*. 2014;15(1):350-360.
21. Alshraim, M., Sangi, S., Harisa, G., Alomrani, A., Yusuf, O., & Badran, M. Chitosan-Coated Flexible Liposomes Magnify the Anticancer Activity and Bioavailability of Docetaxel: Impact on Composition. *Molecules*. 2019; 24(2): 250.
22. Kozhikhova, K. V., Ivantsova, M. N., Tokareva, M. I., Shulepov, I. D., Tretiyakov, A. V., Shaidarov, L. V., ... Mironov, M. A. Preparation of chitosan-coated liposomes as a novel carrier system for the antiviral drug Triazavirin. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2016; 23(4): 334–342.
23. Perez A.P., Altube M.J., Schilrreff P., Apezteguia G., Celes F.S., Zacchino S., de Oliveira C.I., Romero E.L., Morilla M.J. Topical amphotericin B in ultradeformable liposomes: Formulation, skin penetration study, antifungal and antileishmanial activity in vitro. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 2015; 139:190–198.

24. Oberoi, H. S., Yorgensen, Y. M., Morasse, A., Evans, J. T., & Burkhart, D. J. PEG modified liposomes containing CRX-601 adjuvant in combination with methylglycol chitosan enhance the murine sublingual immune response to influenza vaccination. *Journal of Controlled Release*. 2016; 223, 64–74.
25. Pitto-Barry, A., & Barry, N. P. E. Pluronic® block-copolymers in medicine: from chemical and biological versatility to rationalisation and clinical advances. *Polym. Chem.* 2014; 5(10): 3291–3297.
26. Wang, Y., Liu, E., Sun, X., Huang, P., Long, H., Wang, H., Yu, X., Zhenge, C., Huang, Y. Pluronic L61 as a long-circulating modifier for enhanced liposomal delivery of cancer drugs, *Polym. Chem.* 2013; 4: 2958–2962
27. Nema, Sandeep., Ludwig, John. Parenteral Medication, Third Edition, Volume 1 Formulation and Packaging. 2010. London: Informa Health Care.
28. Desai, Achana., Lee, Mary. Gibaldi's Drug Delivery System in Pharmaceutical Care. 2007. USA: American Society of Health System Pharmacist.
29. Manne, N., Yadav, H. K. S., Kumar, S. H., Khom, T. C., & Kumar, N. S. Design and evaluation of a lyophilized liposomal gel of an antiviral drug for intravaginal delivery. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013; 131(2).
30. Stark B, Pabst G, Prassl R. Long-term stability of sterically stabilized liposomes by freezing and freeze-drying: Effects of cryoprotectants on structure. *Eur J Pharm Sci*. 2010;41(3-4):546-555.
31. Nguyen, T. X., Huang, L., Liu, L., Elamin Abdalla, A. M., Gauthier, M., & Yang, G. Chitosan-coated nano-liposomes for the oral delivery of berberine hydrochloride. *J. Mater. Chem. B*. 2014; 2(41), 7149–7159.
32. Alshamsan, A.; Fadilah, S.A.; Mohamed, B.; Fulwah, Y.; Haya, A.; Abdulaziz, A.; Sara, A. Exploring anti-MRSA activity of chitosan-coated liposomal dicloxacillin. *J. Microbiol. Methods*. 2019; 156: 23–28.
33. Cuomo, F., Lopez, F., Ceglie, A., Maiuro, L., Miguel, M. G., & Lindman, B. pH-responsive liposome-templated polyelectrolyte nanocapsules. *Soft Matter*. 2012; 8(16): 4415.
34. Dragicevic, N., Krajisnik, D., Milic, J., Fahr, A., & Maibach, H. Development of hydrophilic Gels containing Coenzyme Q10-loaded Liposomes: Characterization, Stability and Rheology measurements. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2018; 1–42.
35. Crommelin DJA, Storm G. Liposomes: From the bench to the bed. *J Liposome Res*. 2003;13(1):33-36.

36. Bottaro E, Nastruzzi C. "Off-the-shelf" microfluidic devices for the production of liposomes for drug delivery. *Mater Sci Eng C*. 2016;64:29-33.
37. Endo-Takahashi Y, Ooaku K, Ishida K, Suzuki R, Maruyama K, Negishi Y. Preparation of Angiopep-2 peptide-modified bubble liposomes for delivery to the brain. *Biol Pharm Bull*. 2016;39(6):977-983.
38. Ternullo, S., Basnet, P., Holsæter, A. M., Flaten, G. E., de Weerd, L., & Škalko-Basnet, N. Deformable liposomes for skin therapy with human epidermal growth factor: The effect of liposomal surface charge. *European Journal of Pharmaceutical*. 2018; 125: 163-171.
39. Moyá ML, López-López M, Lebrón JA, et al. Preparation and characterization of new liposomes. Bactericidal activity of cefepime encapsulated into cationic liposomes. *Pharmaceutics*. 2019;11(2):1-12.
40. Flores, F. C., Ribeiro, R. F., Ourique, A. F., Rolim, C. M. B., Silva, C. de B. da, Pohlmann, et al. Nanostructured systems containing an essential oil: protection against volatilization. *Química Nova*. 2011; 34(6): 968–972.
41. NanoComposix. Zeta Potential Analysis Of Nanoparticles Vol 1.1. 2012. San Diego: NanoComposix.
42. Shao, X.-R., Wei, X.-Q., Zhang, S., Fu, N., Lin, Y.-F., Cai, X.-X., & Peng, Q. Effects of Micro- environmental pH of Liposome on Chemical Stability of Loaded Drug. *Nanoscale Research Letters*. 2017; 12(1).
43. Jeon, S.-O., Hwang, H.-J., Oh, D.-H., Seo, J.-E., Chun, K.-H., Hong, S.-M., ... Lee, S. Enhanced percutaneous delivery of recombinant human epidermal growth factor employing nano-liposome system. *Journal of Microencapsulation*. 2012; 29(3): 234–241.
44. Choudhary, V., Shivakumar, H., & Ojha, H. Curcumin-loaded liposomes for wound healing: Preparation, optimization, in-vivo skin permeation and bioevaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2018; 1-37.
45. Das, S., & Chaudhury, A. Recent Advances in Lipid Nanoparticle Formulations with Solid Matrix for Oral Drug Delivery. *AAPS PharmSciTech*. 2010; 12(1): 62–76.
46. Channarong S, Chaicumpa W, et al. Development and evaluation of chitosan-coated liposomes for oral DNA vaccine: the improvement of Peyer's patch targeting using a polyplex-loaded liposomes. *AAPS PharmSciTech*. 2011; 12 (1): 192-200.
47. Al-Shdefat R, Yassin AEB, et al. Preparation and characterization of biodegradable paclitaxel loaded chitosan microparticles. *Dig J Nanomater Bios*. 2012; 7 (3): 1139-1147.

48. Panya A, Laguerre M, Lecomte J, et al. Effects of chitosan and rosmarinate esters on the physical and oxidative stability of liposomes. *J Agric Food Chem*. 2010;58(9):5679-5684.
49. Robson, A.-L., Dastoor, P. C., Flynn, J., Palmer, W., Martin, A., Smith, D. W., ... Hua, S. Advantages and Limitations of Current Imaging Techniques for Characterizing Liposome Morphology. *Frontiers in Pharmacology*. 2018; 9.