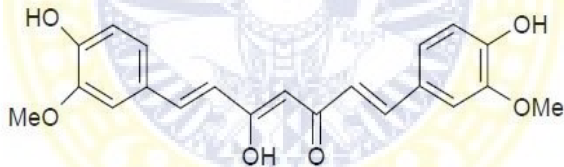


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Kurkumin

Kurkumin [*1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione*] atau *diferuloylmethane* adalah senyawa aktif yang didapat dari ekstraksi bagian rimpang tanaman *Curcuma longa* yang memiliki aktivitas farmakologi yang luas antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antitumor, antiproliferatif, antimetastatik, antiangiogenik, antidiabetes, hepatoprotektif, antiaterosklerosis, antitrombotik, dan antiarthritis (Aggarwal *et al.*, 2006; Bansal, 2011; Xu *et al.*, 2006). Kurkumin dapat berperan sebagai hepatoprotektor karena memiliki potensi dalam melindungi hepar dari efek toksik salah satunya akibat dari induksi arsen (Mathews *et al.*, 2012).



Gambar 2.1 Struktur Kimia Kurkumin (Xu *et al.*, 2006)

Kurkumin berbentuk serbuk dengan warna jingga kekuningan yang sukar larut dalam air dan eter tetapi larut dalam etanol, dimetilsulfoksida, aseton, alkali, keton, asam asetat dan kloroform. Kurkumin memiliki titik lebur pada suhu 183°C. Rumus molekul dari kurkumin yaitu  $C_{21}H_{20}O_6$  dengan berat molekul kurkumin yaitu of 368.37 g/mol (Aggarwal *et al.*, 2006; Chattopadhyay *et al.*, 2004; Sharma *et al.*,

2005). Dengan spektrofotometri, kurkumin memiliki daya serap maksimum ( $\lambda_{max}$ ) dalam metanol pada 420 nm, dengan Hukum Beer dengan kadar 0,5-5,0 $\mu$ g/mL (Aggarwal *et al.*, 2006; Sharma, *et al.*, 2005). Kurkumin terdegradasi pada pH basa dan membentuk *trans-6-(40-hydroxy-30-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-5-hexanal*, *ferulic acid*, *feruloylmethane*, dan vanilin dalam 30 menit (Chattopadhyay *et al.*, 2004; Lin *et al.*, 2000; Sharma, *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2006). Oleh karena itu dibutuhkan antioksidan yang berupa asam askorbat, *N-aceylcysteine* atau glutation yang secara sempurna menghambat degradasi pada media atau buffer fosfat pada pH diatas 7 (Wang *et al.*, 1997). Sedangkan pada kondisi asam, degradasi kurkumin lebih lambat dan terjadi perubahan warna menjadi coklat kemerahan (Wang *et al.*, 1997).

Kurkumin memiliki bioavailabilitas yang buruk yang disebabkan oleh metabolisme kurkumin yang cepat di hati dan dinding usus dan laju disolusi yang lambat (Aggarwal *et al.*, 2006; Bansal *et al.*, 2010; Shoba *et al.*, 1998). Laju disolusi dari kurkumin yang lambat dipengaruhi oleh kelarutan kurkumin dalam air yang rendah dan juga permeabilitasnya yang buruk, sehingga kurkumin diklasifikasikan ke dalam BCS kelas IV (Bansal *et al.*, 2010).

Penelitian oleh Ravindranath menunjukkan bahwa setelah pemberian 400mg kurkumin secara oral kepada mencit, sangat sedikit kurkumin yang ditemukan pada liver dan ginjal. Hal tersebut menunjukkan distribusi kurkumin sangat buruk (Aggarwal *et al.*, 2009). Eliminasi sistemik dan klirens kurkumin juga merupakan salah satu faktor penting yang menentukan aktivitas biologis dari kurkumin. Selain itu penelitian lain menunjukkan bahwa 75% dari kurkumin diekskresi melalui feses dan

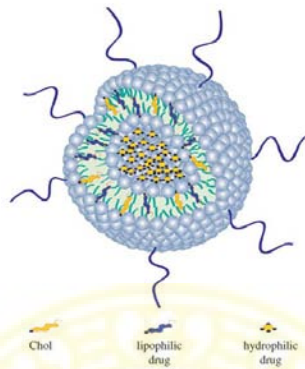
sangat sedikit yang ditemukan dalam urin mencit yang sebelumnya telah diberikan kurkumin 1g/kgBB. Metabolit dari kurkumin, tetrahidrokurkumin, dan bentuk konjugasinya, yaitu kurkumin glukoronidase mempunyai aktivitas yang kurang aktif dari bentuk kurkumin awal (Aggarwal *et al.*, 2009).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memperbaiki bioavailabilitas dari kurkumin, antara lain penggabungan dengan liposom, nanopartikel, dispersi padat, kompleks inklusi, nanoemulsi dan metode lain yang dapat meningkatkan permeabilitas dan meningkatkan resistensinya terhadap proses metabolisme tubuh (Aggarwal *et al.*, 2010; Zhongfa *et al.*, 2012).

## **2.2 Tinjauan Liposom**

### **2.2.1 Definisi Liposom**

Liposom berasal dari bahasa Yunani, yaitu lipos yang berarti lemak dan soma yang berarti tubuh (Khosravi-Darani *et al.*, 2007). Liposom adalah vesikel buatan yang berukuran kecil, memiliki bentuk *spheric*, dan terdiri dari membran fosfolipid bilayer (Yang *et al.*, 2011). Liposom dapat dibuat dari fosfolipid nontoksik dan kolesterol untuk membentuk satu atau multi membran bilayer yang memungkinkan dalam mengenkapsulasi senyawa aktif yang hidrofilik maupun hidrofobik. Ukuran diameter dari liposom yaitu 20nm hingga lebih dari 1 $\mu$ m yang sangat dipengaruhi oleh komposisi dan metode pembuatan (O'Doherty *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2011).



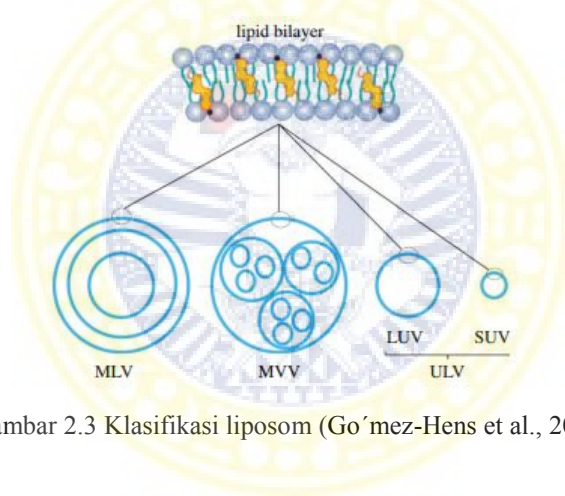
Gambar 2.2 Struktur liposom (Nelson *et al.*, 2014)

Pada dekade terakhir, liposom dianggap sebagai model yang ideal dalam meniru membran biologis sehingga dapat digunakan untuk menghantarkan obat, vaksin, diagnostik dan senyawa aktif lainnya. Penjebakan senyawa aktif dalam liposom dapat memperpanjang waktu sirkulasi dalam tubuh, melindungi dari degradasi metabolik, meningkatkan deposisi pada jaringan yang terinfeksi dan menurunkan uptake di ginjal, myocardia, dan otak (Moghimpour & Handali, 2013).

### 2.2.2 Klasifikasi Liposom

Liposom dapat diklasifikasikan berdasarkan jumlah bilayer yang terdapat dalam vesikel, ukuran diameter liposom, dan metode pembuatan. Klasifikasi liposom berdasarkan jumlah bilayer dan ukuran diameternya adalah yang paling sering digunakan dibandingkan klasifikasi berdasarkan metode pembuatannya. Berdasarkan jumlah bilayer dan vesikel, liposom diklasifikasikan sebagai :

1. *Uni Lamellar Vesicles* (ULV) : terdiri dari satu lipid bilayer dan memiliki ukuran 20nm - 1 $\mu$ m, dapat dibedakan menjadi :
    - a. *Small Unilamellar Vesicles* : memiliki ukuran 20 nm - 100 nm
    - b. *Large Unilamellar Vesicles* : memiliki ukuran >100nm - 1 $\mu$ m
  2. *Multi Lamellar Vesicles* (MLV) : memiliki ukuran 0,1 - 15  $\mu$ m
  3. *Multi Vesicular Vesicles* (MVV) : memiliki ukuran 1,6 - 10  $\mu$ m
- (Doherty *et al.*, 2004; Go'mez-Hens *et al.*, 2005).

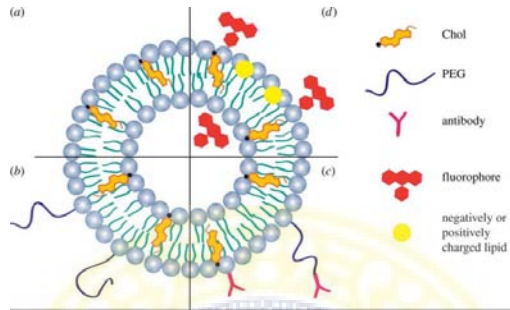


Gambar 2.3 Klasifikasi liposom (Go'mez-Hens *et al.*, 2005)

### 2.2.3 Komponen Liposom

Liposom terutama terdiri dari fosfolipid yang dapat berasal dari alam atau sintesis. Fosfolipid melakukan peran yang penting dengan sifat yang amfifilik dan *self-assembly* untuk mengenkapsulasi suatu agen terapeutik (Khan, 2013). Komponen penyusun liposom yang lain yaitu *membrane stabilizer*, dalam penelitian ini menggunakan kolesterol dan TPGS sehingga diharapkan dapat mengubah sifat permukaan membran

liposom menjadi lebih permeabel. Komponen liposom dengan kolesterol dan TPGS dapat dilihat pada gambar 2.4.



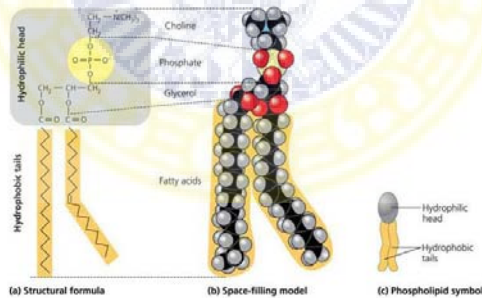
Gambar 2.4 Struktur liposom dengan kolesterol dan TPGS (*d- $\alpha$ -tocopheryl PEG 1000 succinate*) (Nelson *et al.*, 2014)

### 2.2.3.1 Fosfolipid

Secara umum, liposom dibentuk dari fosfolipid yang secara biologis bersifat inert dan memiliki toksisitas yang rendah (Immordino *et al.*, 2006). Fosfolipid berperan penting dalam susunan membran sel sehingga sangat sesuai sebagai penyusun liposom. Fosfolipid umumnya terdiri dari digliserida, gugus fosfat (molekul asam fosfat) dan molekul organik (kolin). Digliserida adalah gliserida yang terdiri dari dua rantai asam lemak yang kovalen terikat pada molekul gliserol tunggal. Gliserol ( $C_3H_8O_3$ ) mengandung tiga gugus hidroksil (-OH), berperan atas kelarutan molekul fosfolipid dalam air. Molekul asam lemak baik jenuh atau tidak jenuh, memiliki sifat hidrofobik. Dengan demikian, molekul fosfolipid terdiri dari bagian hidrofobik yang terdiri dari dua rantai asam lemak, dan kepala hidrofilik terbuat dari gliserol dan fosfat. Struktur bilayer terbentuk

ketika bagian asam lemak dari satu lapisan bertemu dengan bagian asam lemak lapisan lain dan bagian kepala yang menghadap ke air (Khan, 2013).

Tingkat kejenuhan fosfatidil kolin yang menyusun membran liposom mempengaruhi kestabilan dan kerentanannya terhadap oksidasi selama penyimpanan. Fosfatidil kolin alam banyak mengandung rantai yang tidak jenuh (*unsaturated*) sehingga memiliki sifat lebih permeabel tetapi memiliki stabilitas membran yang kurang. Sedangkan fosfolipid sintetis lebih banyak mengandung rantai yang jenuh sehingga akan mempunyai rigiditas membran yang tinggi tetapi mempunyai permeabilitas yang kurang (Akbarzadeh *et al.*, 2013). Fosfolipid yang memiliki rantai jenuh akan membuat sistem liposom yang terbentuk menjadi lebih stabil terhadap oksidasi (Huang *et al.*, 1998) dan fosfolipid dengan rantai asam lemak pendek dapat melawan efek dari enzim lipase yang dapat mendegradasi liposom dalam saluran cerna (Sailaja dan Sashikala, 2014).



Gambar 2.5 Struktur fosfolipid (Tripathi)

Fosfolipid dapat berasal dari alam atau hasil sintesis. Fosfolipid alam termasuk *soybean phosphatidylcholine* (SPC) dan *egg phosphatidylcholine* (EPC), sedangkan fosfolipid sintetis termasuk

*hydrogenated egg phosphatidylcholine* (HEPC), *dipalmitoil phosphatidylcholine* (DPPC) dan *dimyristoyl phosphatidylcholine* (DMPC) (Monteiro *et al.*, 2014). Berikut beberapa sifat fisika kimia dari berbagai jenis fosfolipid :

### 1. ***Egg Phosphatidylcholine (EPC)***

*Egg phosphatidylcholine* (EPC) adalah campuran dari L- $\alpha$ -fosfatidilkolin dengan berbagai rantai asam lemak dan komponen utamanya adalah 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glisero-3-fosfokolin (Jin, L *et al.*, 2006) .



Gambar 2.6 Struktur EPC ([www.lipoid.com](http://www.lipoid.com))

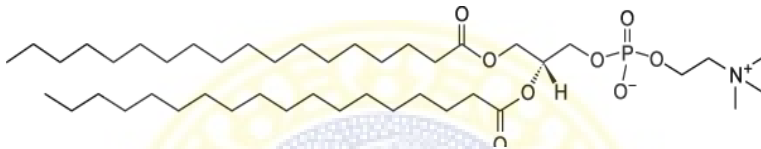
Berikut ini merupakan data sifat sifat dari EPC :

- Pemerian : Serbuk putih kekuningan
- Berat molekul : 775 g/mol
- Kelarutan : Terdispersi dalam air,larut etanol, kloroform,sikloheksana.  
(5% larutan, suhu 20°C)
- Komposisi : Fosfolipid: Fosfatidil kolin 96 %
- |                   |               |           |
|-------------------|---------------|-----------|
| Asam lemak(100%): | Asam palmitat | 30–33%    |
|                   | Asam stearat  | 11 – 15 % |
|                   | Asam oleat    | 27 – 32 % |
|                   | Asam Linoleat | 14–18%    |



## 2. *Hydrogenated Egg Phosphatidylcholine (HEPC)*

Fosfolipid yang dihidrogenasi bertujuan untuk merubah ikatan rangkap atau tidak jenuh (*unsaturated*) pada rantai asam lemak menjadi ikatan tunggal. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan stabilitas terhadap oksidasi, warna, dan bau dari fosfolipid (Daicheng Liu dan Fucui Ma, 2011). Berikut ini merupakan data sifat sifat dari HEPC yang digunakan :



Gambar 2.7 Struktur HEPC ([www.avantilipids.com](http://www.avantilipids.com))

Berikut ini merupakan data sifat sifat dari EPC :

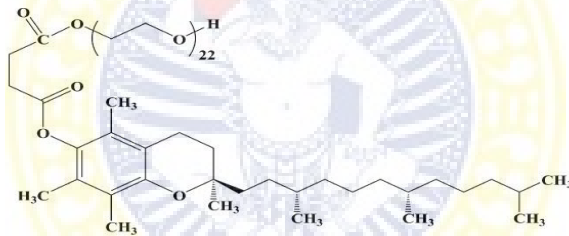
- Pemerian : Putih
- Berat molekul : 790 g/mol
- Kelarutan : Terdispersi dalam air pada suhu 50°C, larut kloroform pada suhu 20°C, larut toluena pada suhu 50°C, larut sikloheksana pada suhu 50°C
- Komposisi : Fosfolipid : Fosfatidil kolin 98%
- Asam lemak(100%) : Asam palmitat 29-33%
- Asam stearat 56-61%
- Asam oleat dan polimer 1%

### 2.2.3.2 TPGS

TPGS (*d- α- tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate*) merupakan polimer larut air yang digunakan sebagai antioksidan dan memiliki efek pada aktivitas permukaan sebagai surfaktan. TPGS telah digunakan dalam pembuatan nanopartikel sebagai *emulsifier, absorption*

*enhancer*, dan *solubilizer*. Formulasi liposom yang menggunakan TPGS sebagai salah satu komponen pembentuk liposom dapat menghasilkan liposom dengan enkapsulasi yang lebih stabil (Zhai et al., 2008).

TPGS terbentuk dari vitamin E yang dikonjugasi dengan polietilen glikol 1000 (PEG 1000). TPGS memiliki stabilitas tinggi dan kelarutan dalam air yang baik. TPGS mungkin berinteraksi dengan muatan negatif fosfolipid tidak jenuh dan meningkatkan adsorpsinya. TPGS tidak menyebabkan fase segregasi di bilayer lipid. TPGS memiliki berat molekul 1513 g/mol (Shah et al., 2011).



Gambar 2.8 Struktur TPGS (Shah et al., 2011)

TPGS adalah vitamin E amfifilik yang cukup stabil dalam kondisi normal tanpa hidrolisis. Karena keseimbangan hidrofilik - lipophilic (HLB) nilainya berada di antara 15 dan 19, TPGS memiliki kelarutan air yang sangat baik dan sangat cocok untuk digunakan sebagai surfaktan yang efektif dapat mengemulsi molekul hidrofobik.

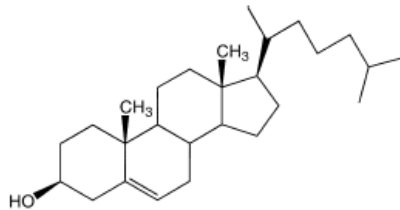
Stabilitas liposom yang dilapisi TPGS ditemukan lebih tinggi daripada liposom konvensional karena sifat surfaktan dari TPGS yang melapisi liposom. Liposom yang dilapisi TPGS menunjukkan peningkatan pada efisiensi enkapsulasi dari obat dibandingkan dengan liposom

konvensional (Muthu, 2011). TPGS akan membuat liposom menjadi lebih lama dalam peredaran darah, meningkatkan absorpsi selular dan dapat mengadakan ikatan konjugasi dengan asam folat (Duhem *et al.*, 2014).

Liposom yang dilapisi dengan TPGS akan membentuk *stealth liposome* yang akan meningkatkan kestabilan liposom dalam darah. TPGS akan melapisi permukaan liposom dan menyamarkan liposom sehingga liposom tidak akan dikenali oleh *mononuclear phagocyte system* (MPS) yang berfungsi untuk klirens liposom (Feng, 2008; Muthu and Feng, 2009). Selain itu, rantai panjang PEG di permukaan liposom akan mencegah adsorpsi protein plasma ke permukaan liposom sehingga akan mengurangi agregasi liposom dalam plasma darah (Muthu and Singh, 2009; Yoshioka, 1991; Yuan *et al.*, 2010).

### 2.2.3.3 Kolesterol

Kolesterol telah banyak digunakan untuk memperbaiki karakteristik membran bilayer liposom (Laouini *et al.*, 2012). Struktur kolesterol tersusun dari hidrokarbon dalam bentuk cincin steroid yang dapat mengisi ruang yang ada di antara rantai alkil pada membran bilayer dan memiliki fungsi penting karena kemampuannya yang dapat memodulasi sifat fisika-kimia membran sel (Ohvo-Rekilä *et al.*, 2002). Selain itu, kolesterol juga banyak digunakan sebagai penyusun liposom untuk memperbaiki sifat rigiditas atau fluiditas dari membran liposom, menstabilkan membran bilayer, dan mengontrol permeabilitas membran (Yu Nie *et al.*, 2012).



Gambar 2.9 Struktur kolesterol

Dari bentuk struktur molekul dan kelarutannya, kolesterol akan bekerja dengan menempati celah-celah dari fosfolipid dan membuat strukturnya lebih rigid (Sashi *et al.*, 2012). Sehingga kolesterol akan menurunkan fluiditas membran dan mengurangi permeabilitas bahan obat yang larut air (Mansoori dan Agrawal, 2012). Liposom tanpa kolesterol akan berinteraksi secara cepat dengan protein plasma seperti albumin, transferin dan makroglobulin. Protein tersebut akan cenderung menarik fosfolipid dari liposom dan akan menyebabkan ketidakstabilan fisik dari liposom. Kolesterol akan mengurangi interaksi antara protein plasma dengan protein tersebut (Sashi *et al.*, 2012). Selain itu kolesterol juga dapat menstabilkan membran terhadap perubahan suhu. Kolesterol akan menurunkan permeabilitas seiring dengan kenaikan suhu (Samad *et al.*, 2007).

### 2.2.4 Tujuan Liposom

Sistem penghantaran liposom digunakan karena kelebihan utama liposom antara lain :

1. Mampu untuk mengenkapsulasi bahan obat yang hidrofilik dan hidrofobik (Akbarzadeh *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2011).

2. Dapat menghantarkan obat ke reseptor tertentu dalam tubuh (Mozafari, 2005).
3. Dapat mengubah sifat farmakokinetik dan biodistribusi bahan aktif dengan cara *delayed clearance* dan memiliki waktu sirkulasi intravaskular yang panjang (Pandelidou *et al.*, 2011).
4. Tahan terhadap enzim yang terdapat di dalam mulut dan lambung, larutan alkali, cairan getah lambung, garam empedu, dan flora usus, serta radikal bebas (Akbarzadeh *et al.*, 2013).
5. Dapat mempertahankan pelepasan senyawa aktif yang dienkapsulasi, sehingga meningkatkan aktivitas terapi (Khan, 2013).

### 2.2.5 Metode Pembuatan Liposom

Secara umum metode pembuatan liposom antara lain *thin film hydration*, *reverse phase evaporation*, *ethanol injection*, *polyol dilution*, *freeze-thaw*, *double emulsions*, *proliposome method*, *French press extrusion*, *detergent removal*, dan *high-pressure homogenization* (Akbarzadeh *et al.*, 2013; Monteiro *et al.*, 2014; Mozafari, 2005). Dari semua metode pembuatan tersebut, metode yang paling sering digunakan yaitu : *thin film hydration*, *reverse phase evaporation*, *ethanol injection* (Yang *et al.*, 2012).

### **2.2.5.1 Thin Film Hydration**

Metode *thin film hydration* merupakan metode yang paling sederhana jika dibandingkan dengan semua metode yang telah disebutkan diatas. Metode ini menggunakan pelarut organik mudah menguap, seperti kloroform, eter dan metanol yang digunakan untuk melarutkan lipid. Setelah lipid dilarutkan, pelarut diuapkan dengan teknik *rotary evaporation* (*rotavapor*) dengan menggunakan tekanan yang rendah hingga terbentuklah lapisan tipis (*thin film*) di bagian bawah dinding. Selanjutnya ditambahkan buffer untuk menghidrasi lapisan lipid tersebut pada suhu diatas titik leleh campuran atau pada titik leleh maksimal campuran tersebut sehingga terbentuklah liposom dengan *multi lamellar vesicles* (MLV). Perbedaan ukuran MLV yang terbentuk bergantung dari waktu hidrasi, metode resuspensi, komposisi dan konsentrasi lipid, dan volume cairan penghidrasi (Monteiro et al., 2014). Namun metode pembuatan ini memiliki keterbatasan yaitu memiliki kemampuan enkapsulasi yang rendah dan sulit untuk menghasilkan liposom dengan ukuran nano. Oleh karena itu digunakan tambahan metode yaitu sonikasi atau ekstrusi sehingga didapat vesikel dengan ukuran ULV (Monteiro et al., 2014).

### **2.2.5.2 Reverse-phase Evaporation**

Metode ini dapat menghasilkan liposom dengan cara membentuk emulsi *water-in-oil* dari fosfolipid dan buffer. Langkah pertama, fosfolipid dilarutkan dalam pelarut organik untuk membentuk lapisan tipis (*thin film*), kemudian pelarut dihilangkan dengan penguapan (evaporasi). Lapisan tipis tersebut diresuspensi dengan dietil eter, dilanjutkan dengan penambahan air.

Selanjutnya, dilakukan sonikasi selama waktu tertentu sehingga membentuk emulsi yang homogen. Pelarut organik tersebut dihilangkan dengan metode *rotary evaporation* tekanan rendah sehingga menghasilkan fase intermediet yang viskus seperti gel yang memiliki ukuran LUV. Metode ini dapat digunakan untuk mengenkapsulasi makromolekul berukuran besar dengan nilai efisiensi enkapsulasi sebesar (20 – 68%). Kelemahan metode ini adalah bahan yang dienkapsulasi terkena paparan dari pelarut organik dan disonikasi dengan kecepatan tinggi yang dapat menimbulkan panas, sehingga dapat merusak molekul yang sensitif terhadap panas (Monteiro et al., 2014).

### **2.2.5.3 Ethanol Injection**

Pada metode ini, lipid yang telah dilarutkan ke dalam etanol segera diinjeksikan dalam larutan buffer, dimana secara spontan akan terbentuk SUV dengan diameter 30nm. Ukuran dari liposom dapat ditingkatkan dengan meningkatkan konsentrasi lipid. Metode pembuatan ini memiliki keuntungan dengan tidak menggunakan perlakuan fisik maupun kimia yang memungkinkan terjadinya kerusakan lipid. Namun, konsentrasi dari vesikel yang dihasilkan sangat sedikit dan dibutuhkan langkah tambahan khusus untuk menghilangkan etanol dari produk akhir (Monteiro et al., 2014).

## 2.3 Tinjauan Pengeringan

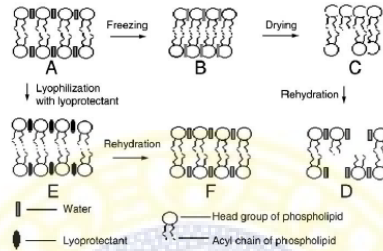
Berbagai jenis peralatan yang dapat digunakan untuk pengeringan bahan, termasuk *tray*, *screen-conveyor*, *screw-conveyor*, *rotary drum*, *tunnel*, *bin*, *spray*, *fluidised bed* dan *flash driers*. Beberapa pengering tersebut memancarkan panas secara langsung, dimana saat udara masuk ke dalam pengering melakukan kontak langsung dengan bahan padat yang basah. Selain itu terdapat jenis peralatan lain yang memancarkan panas secara tidak langsung yaitu dengan pengeringan melalui dinding logam (*metal wall*) atau *tray*. Beberapa alat pengering juga menggunakan kombinasi pemanasan langsung dan tidak langsung. Kebanyakan pengering beroperasi pada atau dekat dengan tekanan atmosfer. Namun, *tray* dan *enclosed rotary driers* dapat dioperasikan di bawah vakum yang umumnya dengan pemanasan tidak langsung. Sebagai alternatif untuk vakum pengeringan, flash atau *spray drying* mungkin sesuai untuk padatan yang tidak stabil terhadap panas karena pengeringan pada sistem tersebut terjadi sangat cepat, biasanya dalam waktu 0,5-6 detik, sehingga kerusakan termal dari kontak yang terlalu lama dengan panas dapat dihindari (Doran, 2013).

### 2.3.1 Tinjauan Lioprotektan

Lioprotektan dapat diartikan sebagai penstabil dan pencegah degradasi suatu makromolekul selama proses pengeringan hingga saat penyimpanan. Mekanisme lioprotektan yaitu dengan cara *water replacement* dan *vitrification* (Chen *et al.*, 2010). Lioprotektan dapat menggantikan air selama pengeringan dan hal tersebut efektif dalam mencegah fusi dan dehidrasi yang menyebabkan kerusakan vesikel



fosfolipid (Monteiro *et al.*, 2014). Gambar 2.10 menggambarkan mekanisme lioprotektan dalam mencegah degradasi suatu liposom dengan cara *water replacement*.



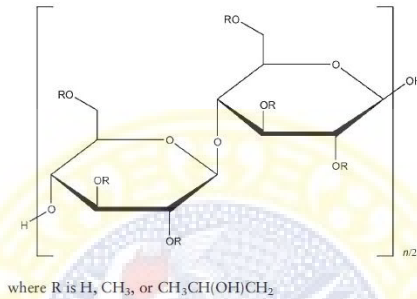
Gambar 2.10 Mekanisme *water replacement* lioprotektan (Chen *et al.*, 2010).

Beberapa jenis lioprotektan yang dapat digunakan yaitu gula termasuk trehalosa, sukrosa dan laktosa. Trehalosa dan sukrosa efektif dalam menjaga integritas membran dan mencegah kebocoran senyawa dalam liposom akibat dari Tg yang cukup tinggi sehingga menyebabkan gula jenis ini paling sering digunakan untuk lioprotektan selama proses liofilisasi (Chen *et al.*, 2010). Sukrosa efektif mencegah agregasi dengan menjaga jarak antar fosfat dan mengurangi ikatan van der Waals rantai lipid sehingga sukrosa akan mengurangi interaksi air dengan fosfolipid dan pada akhirnya akan menggantikan air (Abdelwahed, 2006; Chen *et al.*, 2010).

### 2.3.2 Tinjauan HPMC

*Hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC) memiliki nama kimia *cellulose hydroxypropyl methyl ether*. HPMC berbentuk serat atau butiran bubuk tidak berbau dan berasa dengan warna putih atau krem-putih.

Kelarutan HPMC yaitu larut dalam air dingin, membentuk solusi koloid kental; praktis tidak larut dalam air panas, kloroform, etanol (95%) dan eter, tetapi larut dalam campuran etanol dan diklorometana, campuran metanol dan diklorometana dan campuran air dan alkohol (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 2.11 Struktur HPMC (Rowe *et al.*, 2009)

HPMC tersedia dalam beberapa jenis yang dibedakan berdasarkan viskositas dan tingkat substitusi. Jenis HPMC dapat dibedakan dengan menambahkan nomor yang menandakan viskositas, dalam mPas, dari 2%<sup>b</sup>/b larutan pada 20°C (Rowe *et al.*, 2009). Liposom yang dimasukkan dalam matriks gel HPMC dengan konsentrasi sebesar 2% dapat menurunkan laju pelepasan dan jumlah bahan obat yang dilepaskan ke dalam tubuh (Nounou *et al.*, 2006). HPMC yang memiliki viskositas 15.000mPas pada saat dilarutkan dalam air dengan konsentrasi 2% yaitu HPMC 2208. HPMC mengandung gugus metoksi dan hidropropoksi sesuai dengan batas-batas untuk berbagai jenis HPMC. HPMC 2208, dua digit angka diawal dapat diartikan sebagai isi persentase perkiraan dari kelompok metoksi (OCH<sub>3</sub>) sedangkan dua digit selanjutnya berarti isi persentase perkiraan dari kelompok hidroksipropoksi (OCH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>3</sub>) (Rowe *et al.*, 2009).

## 2.4 Karakterisasi Liposom

### 2.4.1 *Particle Size Analyzer (PSA)*

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel menjadi salah satu sifat yang penting dalam karakterisasi liposom terutama jika liposom akan digunakan dalam bentuk sediaan inhalasi atau rute parenteral. Liposom dengan ukuran kecil akan dapat melewati fenestrae dari sinusoid hati dan dapat beredar dalam tubuh untuk jangka waktu yang lama. Sebaliknya, liposom yang besar dengan cepat dibersihkan oleh makrofag. Oleh karena itu, potensi terapeutik liposom sangat dipengaruhi oleh ukuran vesikel liposom.

Beberapa teknik yang dapat digunakan untuk mengukur ukuran partikel antara lain *dynamic light scattering (DLS)*, *static light scattering*, *gel exclusion*, *light microscopy*, *laser diffraction*, *microscopy technique*, *small-angle X-ray*, *flow cytometri* dan *field-flow fractionation*.

DLS merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel dalam rentang sub-mikron. Kelebihan teknik ini adalah dalam hal kecepatan pengukurannya. Pengukuran hanya membutuhkan waktu 2-5 menit. Untuk melakukan pengukuran, partikel harus disuspensikan dan diiluminasikan dengan cahaya agar partikel dapat menghasilkan indeks refraksi (Monteiro *et al.*, 2014).

Pada nilai PI, tidak ada batas umum yang menunjukkan penerimaan suatu nilai PI. Hal tersebut bergantung pada tujuan terhadap partikel yang akan dibuat. Jika ingin membuat molekul yang monodispersi yaitu molekul dengan berat molekul yang sama atau homogen, maka nilai

PI diusahakan serendah mungkin karena nilai PI merupakan suatu indikator agregasi terhadap molekul, Nilai PI berkisar antara 0-1, semakin rendah nilai PI atau semakin mendekati 0 menunjukkan adanya sistem yang monodispersi. Nilai PI yang mendekati 1 menunjukkan sistem non-monodispersi atau polidispersi yang memiliki kecenderungan untuk mengalami agregasi dibandingkan monodispersi.

#### **2.4.2 Differential Thermal Analysis (DTA)**

Analisis termal merupakan analisis perubahan sifat dari sampel, yang bergantung pada perubahan suhu yang diberikan (Brown, 2001). Selain itu, teknik analisis termal merupakan dasar untuk penentuan data termodinamika polimorf, solvat, maupun bentuk amorf yang dapat dijadikan pertimbangan dalam pembuatan, penyimpanan, dan distribusi dari bahan baku obat. Metode yang umum digunakan dalam analisis termal meliputi *Differential Thermal Analysis (DTA)*, *Differential Scanning Calorimetry (DSC)*, *Thermogravimetry (TG)* dan *Dynamic Mechanical Analysis (DMA)*.

Salah satu analisis termal *Differential Thermal Analysis (DTA)* merupakan teknik analisis termal yang paling sederhana dan paling banyak digunakan. Perbedaan suhu antara sampel dan bahan referensi yang inert diukur saat keduanya mengalami diberi perlakuan panas yang sama (Brown, 2001). DTA sering digunakan dalam karakterisasi bahan farmasi, biologi, kimia organik maupun anorganik dan diterapkan untuk mengukur transisi endotermik dan eksotermik sebagai fungsi suhu. Apabila terjadi termal endotermik ( $\Delta H$  positif, seperti peleburan) terjadi pada sampel, maka suhu sampel,  $T_s$ , akan tertinggal di belakang suhu referensi,  $T_r$ , selama diberikan

pemanasan. Jika output dari termokopel,  $\Delta T = T_s - T_r$ , direkam terhadap  $T_r$  (atau suhu tungku,  $T_f - T_r$ ). Jika proses eksotermik ( $\Delta H$  negatif seperti oksidasi) terjadi pada sampel, respon akan berada di arah yang berlawanan. Karena definisi  $\Delta T$  sebagai  $T_s - T_r$ , sering berubah-ubah, maka setiap kurva DTA harus ditandai dengan arah baik endo atau ekso. Puncak negatif, disebut endoterm dan ditandai dengan suhu onset. Suhu di mana respon pada jarak maksimum dari baseline,  $\Delta T_{max}$ , sering dilaporkan tetapi sangat tergantung pada tingkat pemanasan,  $\beta$ , digunakan dalam suhu dan faktor-faktor seperti ukuran sampel dan posisi termokopel (Brown, 2001).

#### 2.4.3 X-Ray Diffraction (XRD)

Setiap bentuk kristal dalam suatu senyawa memiliki pola difraksi sinar-X yang khas. Pola difraksi ini dapat dihasilkan oleh kristal tunggal atau dari serbuk yang mengandung beberapa bahan. Jarak antara dan intensitas relatif puncak-puncak terdifraksi dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif secara rutin pada pemeriksaan dan penetapan kemurnian relatif bahan berbentuk kristal. Susunan molekul yang relatif acak pada senyawa berbentuk amorf menyebabkan penyebaran sinar-X yang kurang koheren sehingga menghasilkan puncak yang lebar pada pola difraksinya. Sedangkan senyawa yang berbentuk kristal memiliki susunan molekul yang lebih teratur sehingga memberikan pola difraksi yang tajam (Depkes RI, 1995).

Analisis difraksi sinar-X dapat digunakan untuk mempelajari sistem bilayer multilamellar, salah satunya yaitu sistem liposom. Untuk mengukur jangkauan dan besarnya tekanan repulsif antara permukaan

bilayer, sebuah teknik “stres osmotik” dapat digunakan. Dalam metode ini diketahui tekanan osmotik dapat diterapkan untuk sistem multi-bilayer dan jarak antarbilayer pada setiap tekanan yang diterapkan diukur dengan analisis difraksi sinar-X. Pada kesetimbangan, total tekanan repulsif antarbilayer seimbang dengan total tekanan total atraktifnya, yang merupakan jumlah dari tekanan atraktif van der Waals dan tekanan osmotik yang diberikan (McIntosh, 1995).

#### **2.4.4 Scanning Electron Microscope (SEM)**

Karakterisasi terhadap liposom kering kurkumin dilakukan dengan *Scanning electron microscopy* (SEM). Hal ini bertujuan untuk mengetahui struktur matriks penjebak liposom yang sudah terbentuk. Selain itu, bentuk dan morfologi permukaan liposom yang terjebak juga dapat diketahui. Sampel liposom kering kurkumin ditempatkan pada holder (stub) dan ditutup dengan lapisan emas/paladium untuk membentuk sebuah lapisan konduktif menggunakan *Bal-tec cool sputter coater*. Selanjutnya holder tersebut dimasukkan dalam *specimen chamber* pada mesin SEM untuk dilakukan pengamatan dan pemotretan. Dilakukan pengambilan gambar dengan berbagai ukuran perbesaran.

*Scanning electron microscopy* (SEM) dan *transmission electron microscopy* (TEM) dapat digunakan untuk menentukan mengetahui informasi tentang bentuk vesikel dan morfologi permukaan vesikel liposom (Samad *et al.*, 2007).