

Liposom Sebagai Sistem Penghantaran Obat dan Modifikasinya

Liposome as Drug Delivery System and Its Modification

Dara Andini Putri^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

Kata kunci: liposom, sistem penghantaran obat, polimer, nanopartikel, farmasi)

Keyword: liposome, drug delivery system, polymer, formulation, nanoparticle, pharmacy

Korespondensi:

Dara Andini Putri

Universitas Esa Unggul

dara.andini@esaunggul.ac.id

ABSTRAK

Liposom merupakan vesikel sferis tertutup yang terdiri dari rongga inti bersifat polar yang dikelilingi oleh lipid bilayer, memisahkan antara inti dengan lingkungan. Sifat ampifilik dari liposom menyebabkan kemampuan liposom untuk memuat obat hidrofobik maupun hidrofilik. Namun, liposom memiliki beberapa keterbatasan, seperti risiko mengalami kebocoran sistem (*leakage*), agregasi, dan secara cepat diambil dan dibersihkan dari plasma oleh *mononuclear phagocytic system* (MPS) atau *reticuloendothelial system* (RES). Oleh karena itu, penelitian yang terkait dengan modifikasi sistem liposom terus dilakukan untuk meningkatkan kualitas fungsional liposom. Beberapa hal yang perlu diketahui tentang sistem liposom antara lain: definisi, klasifikasi, mekanisme penjerapan obat, mekanisme penghantaran dan pentargetan obat, mekanisme pengambilan seluler, dan contoh modifikasi liposom yang disesuaikan dengan tujuan aplikasi.

ABSTRACT

Liposom, a closed-spherical vesicle, consists of polar core space, surrounded by wall of lipid bilayers, separating between the core and environment. Amphiphilic property of liposome leads to the ability of liposome to deliver hydrophobic or hydrophilic drugs. However, liposome has some hindrances, such as the tendency of system leakage, aggregation, and quickly taken and cleared from plasma by mononuclear phagocytic system (MPS) atau reticuloendothelial system (RES). Therefore, liposome modification researches are still developed to improve the quality of functional liposome. This article provide an overview of liposome that need to known such: definition, classification, drug loading mechanism, drug delivery and targeting mechanism, cellular uptake mechanism, and some current liposome modification researches which suits its application purpose.

PENDAHULUAN

Liposom merupakan vesikel sferis tertutup yang terdiri dari rongga inti bersifat polar yang dikelilingi oleh lipid bilayer, memisahkan antara inti dengan lingkungan. Sifat ampifilik dari liposom menyebabkan kemampuan liposom untuk memuat obat hidrofobik maupun hidrofilik.

Awalnya, liposom memiliki beberapa keterbatasan, antara lain biaya produksi yang tinggi, sukar diproduksi dalam skala besar, dan cenderung bersifat tidak stabil secara fisik, kimia, dan biologi. Secara fisik, liposom juga dapat mengalami kebocoran (*leakage*) akibat masalah permeabilitas dan agregasi terkait interaksi Van der Waals antar liposom.

Secara biologi, liposom secara cepat diambil dan dibersihkan dari plasma oleh *mononuclear phagocytic system* (MPS) atau *reticuloendothelial system* (RES) yang banyak terdapat di hati dan limpa (Banarjee, 2015; Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014). Oleh karena itu, penelitian modifikasi dari sistem liposom terus dilakukan dalam dunia teknologi farmasi untuk meningkatkan kualitas dan nilai fungsional liposom di dunia farmasi. Beberapa contoh hasil modifikasi dari liposom adalah liposom sensitif suhu, lipopleks, dan polimersom. Liposom sensitif suhu merupakan liposom yang tersusun atas *smart polymer* yang memiliki minimal dua fase akibat pengaruh suhu sehingga bisa dimanfaatkan untuk mengendalikan pelepasan obat di jaringan tumor. Lipopleks atau liposom

kationik dimanfaatkan untuk penghantaran gen. Sementara polimersom merupakan alternatif dari liposom di mana komponen penyusunnya adalah *block copolymer* ampifilik. Sistem polimersom dapat memperbaiki kekurangan liposom dalam masalah stabilitas sehingga dapat memberikan efek waktu sirkulasi yang lebih lama (Fu et al., 2017; Martens et al., 2017; Wang et al., 2016).

LIPOSOM SEBAGAI SISTEM PENGHANTARAN OBAT DAN MODIFIKASINYA

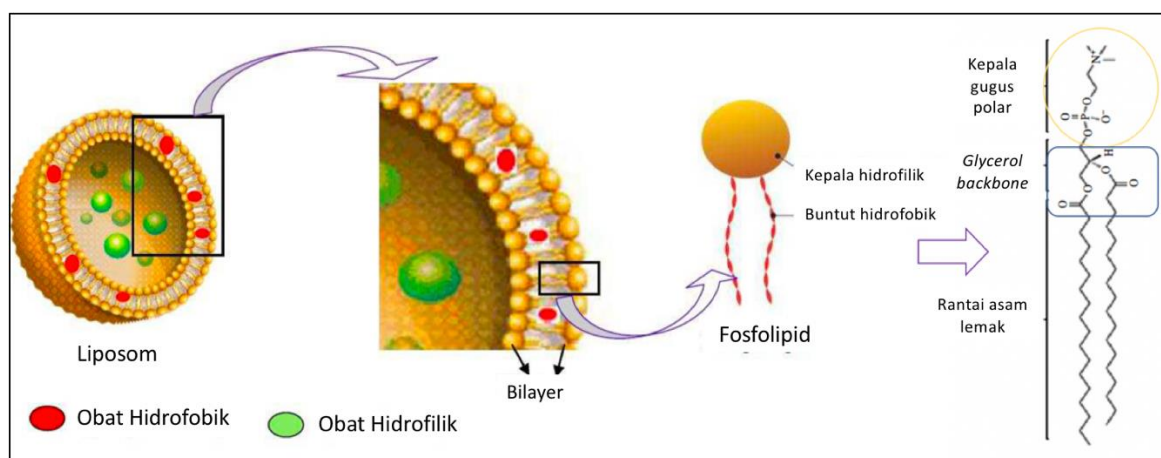
Lipid merupakan molekul ampifilik di mana satu bagian dari molekul bersifat hidrofilik dan bagian lainnya bersifat hidrofobik. Ketika lipid diinteraksikan dengan air, interaksi tolak menolak antara bagian hidrofobik dengan air dapat menyebabkan terbentuknya liposom. Liposom merupakan vesikel sferis tertutup yang terdiri dari rongga inti bersifat polar yang dikelilingi oleh lipid bilayer, memisahkan antara inti dengan lingkungan.

Liposom pertama kali ditemukan secara tidak sengaja oleh Alec D. Bangham dan koleganya ketika mereka meneliti interaksi antara lesitin telur dengan air pada tahun 1961. Awalnya, struktur fosfolipid bilayer yang tertutup disebut dengan istilah 'bangosom' lalu diganti dengan istilah 'liposom.' Liposom berasal dari bahasa Yunani, yaitu lipos (lipid) dan soma (tubuh). Sejak ditemukannya struktur membran anatomi berupa dua lapisan lipid dengan protein tertanam di dalam

membran, sistem berbasis lipid yang meniru struktur membran sel terus dikembangkan sebagai sistem penghantaran obat (Banarjee, 2015; Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014)

Sebagai sistem penghantaran obat, sifat ampifilik dari liposom menyebabkan kemampuan liposom untuk memuat obat hidrofobik maupun hidrofilik (Gambar 1). Obat hidrofobik akan dimuat di lapisan hidrofobik pada lipid bilayer, sementara obat

hidrofilik akan dimuat dalam inti polar atau ruang antar bilayer (Çağdaş, 2014). Ukuran liposom dapat bervariasi dari ukuran vesikel yang sangat kecil (25 nm) sampai ukuran yang besar (2,5 μm), tergantung dari jumlah lipid bilayer dalam vesikel. Dalam pengobatan kanker, ukuran vesikel biasanya berkisar 50-200 nm untuk meningkatkan efek EPR (*enhanced permeability and retention*) (Kim, 2016).



Gambar 1. Lokasi penyerapan obat hidrofilik dan obat hidrodobik dalam liposom (Sumber: Monteiro et al., 2014 ; telah diolah kembali)

Selain mampu menyerap dan meningkatkan penghantaran obat hidrofobik dan hidrofilik, liposom memiliki beberapa kelebihan lainnya, antara lain bersifat biokompatibel, dapat dimodifikasi secara fleksibel, menghindari degradasi obat secara prematur, meningkatkan penghantaran di lokasi target secara selektif bila dimodifikasi, dan mengatur biodistribusi obat di dalam tubuh (Banarjee, 2015; Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014) Namun, liposom juga memiliki beberapa keterbatasan, antara lain biaya produksi yang tinggi, sukar diproduksi dalam

skala besar, dan cenderung bersifat tidak stabil secara fisik, kimia, dan biologi. Secara kimia, fosfolipid dapat terhidrolisis pada ikatan ester yang menghubungkan gliserol dengan asam lemak dan teroksidasi pada rantai alkil tidak jenuh. Reaksi kimia tersebut dapat mempengaruhi distribusi ukuran liposom dan pada akhirnya akan mempengaruhi waktu simpan dari liposom. Secara fisik, liposom juga dapat mengalami kebocoran (*leakage*) akibat masalah permeabilitas dan agregasi terkait interaksi Van der Waals antar liposom. Secara biologi, liposom secara cepat diambil

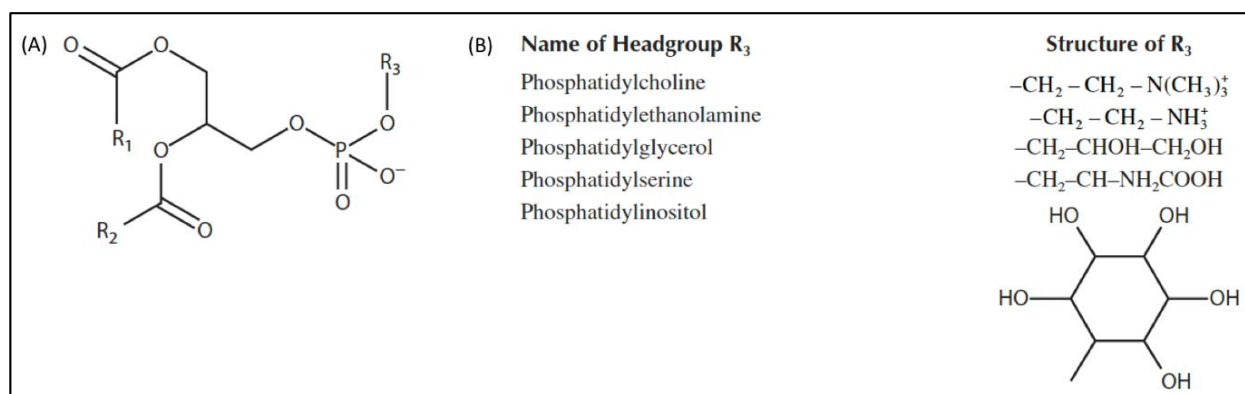
dan dibersihkan dari plasma oleh *mononuclear phagocytic system* (MPS) atau *reticuloendothelial system* (RES) yang banyak terdapat di hati dan limpa. Namun, keterbatasan tersebut masih dapat teratasi mengingat struktur liposom dapat dimodifikasi sesuai dengan kebutuhan (Banarjee, 2015; Çağdaş, 2014).

Komponen liposom

Fosfolipid

Fosfolipid merupakan komponen utama dari liposom. Secara umum, struktur fosfolipid terdiri dari dua rantai alkil yang terhubung dengan kepala gugus polar, dengan gliserol sebagai *backbone* (Gambar 2). R_1 dan R_2 merupakan rantai alkil jenuh atau

tidak jenuh dan R_3 merupakan kepala gugus polar. Kepala gugus polar dapat berupa gliserol, kolin, etanolamin, serin, atau inositol yang terhubung dengan gugus fosfat (PO_4^{2-}) lewat ikatan ester. Fosfatidilkolin dan fosfatidiletanolamin banyak ditemukan pada hewan dan tumbuhan sehingga banyak digunakan. Namun, fosfolipid alam cenderung bersifat kurang stabil dibandingkan dengan fosfolipid sintetik. Beberapa contoh lipid sintetik antara lain dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC), dimiristoilfosfatidilkolin (DMPC), distearoilfosfatidilgliserol (DSPG), dan lain-lain. Jenis kepala gugus polar yang digunakan akan mempengaruhi muatan dari fosfolipid. (Banarjee, 2015; Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014).



Gambar 2. Struktur kimia fosfolipid. (A) Struktur dasar fosfolipid dan (B) Jenis kepala gugus polar fosfolipid (Sumber: Banarjee, 2015 ; telah diolah kembali)

Sementara pada bagian rantai alkil, jenis rantai alkil dan panjang rantai karbon yang digunakan akan mempengaruhi karakteristik fosfolipid (Banarjee, 2015; Monteiro et al., 2014). Ikatan rangkap pada rantai alkil tidak jenuh cenderung membentuk ruang antar rantai alkil sehingga kepadatan

lipid lebih rendah dan bersifat lebih permeabel dibandingkan dengan rantai alkil jenuh. Fosfolipid dengan rantai alkil tidak jenuh umumnya berasal dari alam. Di sisi lain, rantai alkil jenuh akan memberikan struktur bilayer yang lebih kaku (*rigid*), dan bersifat impermeabel. Hal tersebut disebabkan karena

interaksi antar rantai alkil yang lebih kuat. (Akbarzadeh et al., 2013; Monteiro et al., 2014). Namun perlu diperhatikan, fluiditas dan permeabilitas vesikel liposom tidak hanya dipengaruhi oleh jenis rantai alkil. Faktor lain seperti suhu lingkungan, suhu transisi fase cair-kristal (T_c), dan kolesterol yang digunakan juga mempengaruhi fluiditas dan permeabilitas liposom. Oleh karena itu, liposom dengan fosfolipid rantai alkil tidak jenuh belum tentu bersifat lebih permeabel dibandingkan dengan susunan fosfolipid rantai alkil jenuh (Monteiro et al., 2014)

Ketika fosfolipid dilarutkan di dalam air, kemungkinan akan terbentuk misel atau liposom. Bila fosfolipid yang digunakan memiliki rantai alkil yang terlalu pendek dan struktur yang kompak, maka fosfolipid akan cenderung membentuk misel (Monteiro et al., 2014).

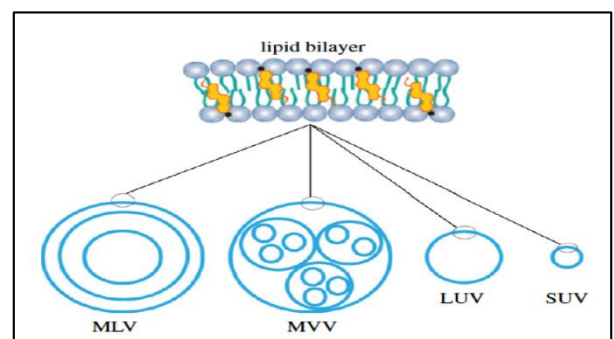
Sterol

Molekul kolesterol yang bertindak sebagai *backbone* sistem vesikel memiliki gugus hidroksil yang menghadap fase air dan cincin trisiklik yang terletak di antara beberapa karbon pertama dari rantai alkil sampai lapisan hidrokarbon bilayer. Kolesterol sebagai *backbone* akan meningkatkan densitas bilayer, mengurangi risiko molekul hidrofilik berpermeasi ke dalam membran, mencegah perubahan bentuk lipid menjadi sistem gel, dan mengurangi risiko interaksi liposom dengan protein darah seperti albumin, m-transferrin, dan makroglobulin yang mampu mengurangi

stabilitas dan kemampuan liposom sebagai sistem penghantaran obat. Namun jumlah penggunaan kolesterol juga perlu diperhatikan karena bila berlebihan juga dapat merusak bentuk liposom (Banarjee, 2015; Monteiro et al., 2014)

Klasifikasi liposom

Umumnya, liposom diklasifikasikan berdasarkan jumlah bilayer dan ukuran partikel. Satu vesikel liposom dapat mengandung satu lipid bilayer (unilameral) atau beberapa lipid bilayer yang terpisah (multilameral) yang akan mempengaruhi ukuran vesikel (Tabel 1). Pada vesikel multilameral, satu lipid bilayer dengan lipid bilayer lainnya tidak menempel sehingga memberikan lebih banyak ruang polar. Lipid bilayer ini pun juga dapat membentuk sub-vesikel di dalam vesikel seperti pada kasus MVV (Gambar 3) (Banarjee, 2015; Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014) Jenis-jenis liposom juga bervariasi berdasarkan komposisi dan aplikasi (Tabel 2).



Gambar 3. Struktur lipid bilayer dalam berbagai jenis liposom (Sumber: Monteiro, 2014; telah diolah kembali)

Tabel 1. Klasifikasi liposom berdasarkan jumlah lipid bilayer dan ukuran partikel

Jenis Vesikel	Singkatan	Diameter Hidrodinamik	Jumlah Lipid Bilayer
<i>Small unilamellar vesicles</i>	SUV	20-50 nm	1
<i>Large unilamellar vesicles</i>	LUV	100-1000 nm	1
<i>Giant unilamellar vesicles</i>	GUV	>1000 nm	1
<i>Multilamellar vesicles</i>	MLV	>500 nm	5-25
<i>Oligolamellar vesicles</i>	OLV	100-1000 nm	~5
<i>Multivesicular vesicles</i>	MVV	>1000 nm	Struktur multikompartemen

(Sumber: Banerjee, 2015 ; telah diolah kembali)

Tabel 2. Klasifikasi liposom berdasarkan komposisi dan aplikasi

Jenis Liposom	Definisi
<i>Stealth liposome (cryptosome)</i>	Liposom yang disalut dengan PEG untuk mencegah pengambilan oleh RES (efek <i>stealth</i>) dan memperpanjang waktu sirkulasi liposom.
Immunoliposom	Liposom yang dimodifikasi dengan antibodi atau peptida di permukaan bilayer untuk meningkatkan pengenalan dan pengikatan obat dengan sel target di jaringan atau organ tertentu.
Virosom	Vesikel unilamellar berukuran kecil mengandung hemagglutinin influenza yang bersifat fusogenik bila berinteraksi dengan membran sel. Pemanfaatan membran antigen dapat meningkatkan respon imun terhadap vesikel.
Lipopleks (genosom)	Liposom kationik membentuk kompleks dengan DNA atau siRNA anionik, ideal untuk penghantaran gen dan memudahkan transfeksi sel.
Liposom sensitif suhu	Liposom yang dimodifikasi dengan adanya polimer sensitif suhu yang tertanam pada lapisan bilayer sehingga dapat mempengaruhi bentuk vesikel dan sistem pelepasan obat yang bergantung terhadap suhu lingkungan. Umumnya digunakan untuk sistem penghantaran obat yang bersifat spesifik di jaringan target.
Liposom sensitif pH (PSL)	Bahan sensitif pH (palmitoil homosistein) dikooperasikan ke dalam liposom. Liposom akan pecah pada pH < 6.5, ideal digunakan untuk lokasi target infeksi, inflamasi, atau tumor dengan pH di bawah rentang pH fisiologis.
Liposom terkonjugasi folat	Liposom dikonjugasikan dengan folat sebagai <i>targeting agent</i> untuk meningkatkan penghantaran obat secara selektif di lokasi sel kanker yang memproduksi reseptor folat berlebih, umumnya kanker epitel seperti mieloid leukemia dan penyakit inflamasi yang berkaitan dengan makrofag

(Sumber: Banerjee, 2015; Kim, 2016; telah diolah kembali)

Mekanisme penjerapan obat dalam liposom

Sebelum preparasi liposom dilakukan, ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam pemilihan metode preparasi antara lain sifat fisikokimia zat aktif; sifat fisikokimia bahan pembentuk liposom; pelarut sebagai

pendispersi; konsentrasi dan potensi toksisitas zat aktif; sistem penghantaran liposom; ukuran optimum, polidispersitas, dan waktu paruh liposom yang dibutuhkan; serta reproduksibilitas (Çağdaş, 2014).

Penjerapan obat ke dalam liposom dapat dilakukan dengan teknik penjerapan pasif atau aktif. Pada teknik penjerapan pasif, obat dienkapsulasi pada saat formasi vesikel liposom. Pada teknik penjerapan aktif, obat dijerap setelah liposom dibentuk dengan memanfaatkan adanya gradien pH (Akbarzadeh et al., 2013). Beberapa metode preparasi liposom secara pasif yang umum digunakan adalah hidrasi lapis tipis, evaporasi fase terbalik, dan injeksi etanol (Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014)

Hidrasi lapis tipis

Langkah awal dari metode hidrasi lapis tipis meliputi proses solubilisasi fase lipid (fosfolipid dan obat hidrofobik) dalam pelarut organik yang mudah menguap, seperti kloroform, eter, atau metanol. Wadah yang digunakan hendaknya berupa botol kaca dengan bentuk dasar yang bulat. Hal ini dimaksudkan agar ketika pelarut organik dievaporasi, luas permukaan lapisan lipid akan lebih besar sehingga meningkatkan kemampuan enkapsulasi. Proses evaporasi pelarut organik dapat dilakukan dengan menggunakan teknik evaporasi putar dalam kondisi tekanan rendah atau aliran nitrogen sehingga diperoleh lapisan lipid tipis. Metode evaporasi alternatif seperti *freeze drying* juga dapat dilakukan, tergantung dari sifat fisikokimia fase lipid (Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014)

Lapisan fase lipid kemudian diliofiliasi menggunakan pelarut polar (m mengandung obat

hidrofilik) yang disertai dengan larutan penyangga pada suhu di atas T_c lipid. Larutan kemudian diaduk secara manual atau secara mekanik menggunakan sonikator atau pengaduk vortex. Produk akhir yang dihasilkan berupa suspensi lipid seperti susu yang kemudian didiamkan sampai proses *swelling* selesai sehingga diperoleh vesikel liposom. Umumnya, metode hidrasi lapis tipis digunakan untuk memperoleh MLV (Çağdaş, 2014; Monteiro et al., 2014)

Bila ukuran vesikel terlalu besar untuk diaplikasikan, vesikel unilameral (ULV) dapat dibentuk dari MLV dengan cara mikroemulsifikasi atau ultrasonikasi. Mikroemulsifikasi menggunakan mikrofluidisizer sehingga dapat diperoleh ULV dengan ukuran 50-200 nm. Teknik sonikasi berupa *bath sonicator* atau *probe sonicator* merupakan teknik yang paling umum digunakan untuk memperoleh ULV. *Bath sonicator* diaplikasikan bila volume dispersi lipid besar, sementara *probe sonicator* digunakan ketika suspensi lipid lebih terkonsentrat. Namun, teknik *probe sonicator* memiliki beberapa keterbatasan antara lain risiko terjadinya kontaminasi metal dari *probe* dan degradasi liposom akibat suhu panas, sehingga teknik *bath sonicator* lebih diutamakan. Teknik sonikasi dapat menghasilkan ULV dengan rentang diameter 15-50 nm (Çağdaş, 2014).

Evaporasi fase terbalik

Pada metode ini, liposom dibentuk dari sistem emulsi a/m dalam pelarut organik berlebih. Fase lipid dilarutkan dalam pelarut organik untuk membentuk film kemudian pelarut dievaporasi. Film kemudian diresuspendi dengan dietil eter dan fase air. Campuran lalu disonikasi sehingga diperoleh sistem emulsi yang homogen. Pelarut organik lalu diuapkan kembali dengan tekanan rendah atau teknik evaporasi putar, menghasilkan fase kental seperti gel. Metode ini cocok untuk menghasilkan LUV. Hasil LUV yang diperoleh dapat dilewatkan pada membran polikarbonat 0,2 μm atau ukuran lain untuk memperoleh distribusi ukuran yang seragam. Metode ini mampu mengenkapsulasi senyawa makromolekul dengan efisiensi enkapsulasi yang tinggi. Namun, metode ini juga melibatkan pelarut organik dan sonikasi yang dapat menyebabkan denaturasi molekul obat (Kim, 2016; Monteiro et al., 2014).

Injeksi etanol

Pada metode ini, fase lipid dilarutkan di dalam etanol kemudian dengan cepat diinjeksikan ke dalam larutan penyangga secara spontan sehingga membentuk SUV dengan diameter 30 nm. Namun, ukuran liposom dapat ditingkatkan seiring dengan penambahan konsentrasi fase lipid (Monteiro et al., 2014). Metode ini mudah dilakukan dan risiko produk terdegradasi juga rendah. Namun, metode ini memiliki beberapa keterbatasan antara lain volume etanol yang

bisa melarutkan lipid dan ditambahkan ke dalam fase air terbatas sehingga persentase enkapsulasi obat hidrofilik lebih rendah. Selain itu, keberadaan etanol dalam sistem juga sukar dihilangkan (Çağdaş, 2014).

Mekanisme penghantaran dan pentargetan liposom

Dalam pencapaiannya menuju sel target, liposom sebagai vesikel dapat menghantarkan obat secara pasif atau aktif. Penghantaran dan pentargetan secara pasif adalah penghantaran obat yang bergantung pada sifat patologifisiologi dari lokasi target. Sebagai contoh, jarak antar sel endotel kapiler darah pada jaringan tumor lebih besar (100-780 nm) dibandingkan dengan jarak antar sel endotel normal (5-10 nm). Hal tersebut menyebabkan kapiler darah pada jaringan tumor bersifat lebih *leaky* dibandingkan dengan jaringan normal. Sifat patofisiologi inilah kemudian dimanfaatkan untuk jalur pentargetan obat secara konveksi (Banerjee, 2015; Deshpande et al., 2013).

Penggunaan liposom sebagai vesikel dapat membantu ekstrasvasasi dan retensi obat di dalam jaringan tumor. Penggunaan *stealth liposome* sebagai vesikel dapat meningkatkan stabilitas obat terhadap RES di dalam darah sehingga pengambilan sistem di kapiler darah jaringan tumor lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa pembawa. Kemudian pengaturan ukuran vesikel juga dapat meningkatkan efek EPR. Ukuran liposom yang efektif untuk ekstrasvasasi adalah kurang dari 200 nm.

Namun yang perlu diperhatikan, jaringan tumor memiliki *high interstitial fluid pressure* (IFP) yang dapat menghambat pengambilan obat ke dalam tumor. Hal tersebut dapat diatasi dengan penghantaran obat secara aktif (Banerjee, 2015; Deshpande et al., 2013).

Penghantaran secara aktif melibatkan *targeting agent* berupa ligan (folat, transferrin, glikan, atau asam nukleat) atau antibodi yang terikat di permukaan liposom. Sebagai contoh, pada kasus kanker hati, reseptor transferrin lebih banyak diekspresikan dibandingkan pada kondisi fisiologi normal. Doksorubisin yang dikapsulasi oleh *stealth liposome* dengan transferrin sebagai *targeting agent*, akan secara aktif dihantarkan menuju tumor hati. Transferrin di permukaan akan berikatan dengan reseptor transferrin pada sel tumor sehingga liposom yang membawa doksorubisin akan masuk ke dalam sel tumor secara endositosis (Banerjee, 2015; Deshpande et al., 2013).

Mekanisme pengambilan liposom oleh sel

Pelepasan obat dari liposom bisa terjadi secara adsorpsi, endositosis, fusi dengan membran sel, dan/atau pertukaran lipid.

Adsorpsi

Adsorpsi meliputi interaksi antara bilayer liposom dengan bilayer sel tanpa merusak lapisan liposom atau adanya proses internalisasi oleh sel. Adsorpsi dapat bersifat spesifik dengan bantuan *targeted ligand* seperti antibodi, atau bersifat non-spesifik

yang bergantung pada gaya permukaan dan intermolekular. Pada proses adsorpsi, obat dapat dilepaskan pada cairan ekstraseluler dan beberapa fraksi dapat menembus membran sel. Obat basa lemah seperti doksorubisin dan vinkristin dapat menembus sel dalam bentuk bebas secara difusi pasif. Sementara obat hidrofilik dapat menembus sel menggunakan transporter membran sel (Allen & Cullis, 2013).

Endositosis

Endositosis meliputi pengambilan liposom ke dalam sel dengan cara enkapsulasi dalam bentuk endosom kemudian dihantarkan menuju lisosom di mana lipid akan didegradasi dan molekul yang terenkapsulasi akan keluar tersebar di sitoplasma. Mekanisme ini sekarang menjadi perhatian karena dinilai lebih efektif. Mekanisme ini dapat dicapai dengan memanfaatkan teknologi *targeting agent* di permukaan liposom

Fusi

Fusi meliputi insersi lipid bilayer liposom ke membran plasma diikuti dengan konten liposom ke dalam sitoplasma. Mekanisme ini terjadi pada liposom dengan susunan lipid fusogenik atau peptida aktif yang umumnya diterapkan untuk penghantaran obat yang tidak bisa menembus membran plasma seperti obat kanker (Akbarzadeh et al., 2013). Namun, mekanisme ini jarang ditemukan pada liposom (Allen & Cullis, 2013).

Lipid exchange

Struktur fosfolipid bilayer liposom memiliki kemiripan dengan struktur membran fisiologis sehingga protein di permukaan membran sel akan mengenal liposom dan terjadi pertukaran lipid. Hal tersebut menyebabkan destabilisasi membran liposom dan pelepasan molekul obat secara intraseluler oleh liposom (Agarwal et al., 2016)

Contoh modifikasi dan aplikasi liposom

Modifikasi liposom terus dilakukan untuk meningkatkan kualitas liposom secara fisik dan kimia serta memperluas nilai fungsionalitas liposom untuk aplikasi terbaru di dunia farmasi. Beberapa contoh modifikasi liposom yang banyak diteliti antara lain liposom sensitif terhadap stimulan (suhu, pH, medan magnet, atau *ultrasound*), lipopleks (genosom) untuk penghantaran gen, dan polimersom (Alavi et al., 2017; Fotoran et al., 2017; Huang et al., 2014; Riaz et al., 2018; Zylberberg & Matosevic, 2016).

Liposom sensitif suhu

Thermoresponsive liposome (TSL) merupakan salah satu jenis modifikasi liposom yang ditemukan pada tahun 1978. Modifikasi liposom ini melibatkan pemanfaatan fosfolipid termoresponsif ke dalam formula. Pembawa TSL cocok diaplikasikan terutama untuk meningkatkan ekstravasasi senyawa antikanker hidrofilik. Ekstravasasi merupakan *rate-limiting step* dalam penghantaran obat tertarget baik secara pasif maupun aktif

(Kneidl et al., 2014). *Stealth liposome* dapat memperpanjang waktu sirkulasi liposom dalam sistemik namun *stealth liposome* tidak dapat mengatur konsentrasi obat di dalam jaringan tumor secara lokal (Wang et al., 2016). TSL merupakan bentuk liposom alternatif di mana pelepasan obat intravaskular dapat dikendalikan secara lokal oleh stimulan suhu eksternal. Adanya stimulan suhu eksternal ini tidak hanya meningkatkan permeabilitas vaskular tumor (*pre-hyperthermia*) saja namun juga meningkatkan pelepasan obat dari TSL di jaringan tumor (*second hyperthermia*) (Kneidl et al., 2014).

Fosfolipid termoresponsif memiliki dua bentuk fase, yaitu gel-solid (L_{β}) dan kristal-cair (L_{α}) yang dibatasi oleh suhu transisi fase leleh (T_m). Ketika TSL berada di suasana suhu tubuh, fosfolipid masih dalam bentuk fase gel-solid sehingga permeabilitas obat rendah. Dengan meningkatkan suhu pada jaringan tumor (T) di atas T_m fosfolipid, TSL yang masuk ke dalam kapiler tumor akan berubah menjadi fase kristal-cair. Hal tersebut menyebabkan bentuk fosfolipid menjadi tidak teratur dan ruang fosfolipid menjadi lebih renggang sehingga permeabilitas obat meningkat dan obat dilepaskan secara difusi pasif. Obat yang dilepaskan kemudian akan diadsorpsi oleh sel target. Permeabilitas obat tertinggi terjadi ketika $T \sim T_m$ karena kedua fase terdapat dalam satu vesikel.

Aplikator pemanasan menggunakan suhu $\sim 42^{\circ}\text{C}$ untuk pemanasan jaringan tumor

secara lokal. Oleh karena itu, fosfolipid yang menyusun TSL hendaknya memiliki rentang T_m yang berkisar pada suhu pemanasan. 1,2-dipalmitoil-*sn*-glisero-3-fosfokolin (DPPC) merupakan fosfolipid yang paling sering digunakan dalam formulasi TSL karena memiliki T_m di atas suhu tubuh, yaitu 41.4 °C. Agar TSL tidak mudah mengalami kebocoran pada suhu tubuh, DPPC biasanya dikombinasikan dengan fosfolipid lain dengan nilai T_m yang lebih tinggi. TSL sendiri dapat dimodifikasi lebih lanjut untuk meningkatkan waktu sirkulasi dengan modifikasi permukaan TSL menginkooperasikan oligogliserol (DPPG₂-TSL) atau polietilenglikol (PEG) (*stealth TSL*). TSL juga dapat mengenkapsulasi MRI-*active contrast agent* sehingga dapat digunakan untuk karakterisasi penghantaran obat atau diagnostik (Kneidl et al., 2014).

Salah satu contoh penelitian mengenai TSL adalah formulasi antikanker hidrofobik paclitaxel (PTX) dalam pembawa TSL. Penyusun TSL terdiri dari DPPC, monostearoil fosfatidilkolin (MSPC), 1,2-dipalmitoil-*sn*-glisero-3-fosfoetanolamin—[metoksi (polietilen glikol)-2000] (DSPE-PEG 2000), dan distearoil fosfatidilgliserol (DSPG) dengan perbandingan rasio molar 83:3:10:4. Preparasi TSL-PTX dilakukan dengan cara metode hidrasi lapis tipis

Dari penelitian tersebut diperoleh TSL-PTX dengan ukuran ± 100 nm, *polydispersion index* (PDI) 0.82, konsentrasi 2.00 ± 0.2

mg/ml, dan EE 98.21%. Suhu transisi fase dimulai pada suhu 38°C dengan T_m 42°C. Adanya pelebaran suhu transisi ini disebabkan terjerapnya PTX dalam bilayer sehingga mengganggu konformasi rantai alkil. TSL-PTX juga bersifat stabil dalam penyimpanan -20°C ditandai dengan kadar PTX yang masih > 95% selama 3 bulan. Uji *in vitro* menunjukkan pelepasan obat mengikuti karakteristik termosensitivitas di mana PTX dilepaskan sebanyak 20% pada suhu 37°C dan 47% pada suhu 42°C setelah 2 jam. Karakteristik termosensitivitas tersebut juga dikonfirmasi oleh uji *in vivo* di mana TSL-PTX menunjukkan akumulasi PTX yang lebih tinggi (60.1 ng/mg) dibandingkan dengan PTX dalam *non-thermoreponsive liposome* (NTLS) (30.1 ng/mg) dan injeksi PTX biasa (PI) (24.7 ng/mg) pada suhu 42°C. Karakteristik termosensitif juga dikonfirmasi kembali melihat akumulasi PTX. TSL-PTX menunjukkan akumulasi PTX yang lebih tinggi pada suhu 42°C dibandingkan pada suhu 37°C. Hal tersebut disebabkan karena efek peningkatan permeabilitas vaskular dan efek termosensitivitas TSL pada akibat hipertermia. Uji aktivitas antitumor secara *in vivo* juga menunjukkan hasil yang selaras di mana TSL-PTX (868.2 mm³) menurunkan volume tumor lebih besar dari NTSL (1324.9 mm³) dan PI (1274.7 mm³). Profil farmakokinetik menunjukkan TSL-PTX terdistribusi dan tereliminasi dengan waktu yang lebih lama dibanding dengan PI. Dari penelitian tersebut

dapat diambil kesimpulan bahwa TSL-PTX dapat menekan pertumbuhan tumor dengan bantuan hipertermia sehingga berpotensi menjadi metode baru untuk tumor solid (Wang et al., 2016).

Lipopleks

Lipopleks tersusun atas lipid kationik yang biasanya dikombinasikan dengan lipid netral (*colipid*). Lipid kationik merupakan senyawa ampifilik yang terdiri dari rantai hidrofobik yang terhubung dengan gugus kepala bermuatan positif sehingga dapat berinteraksi dengan DNA yang bermuatan negatif. Gugus bermuatan positif pada lipid kationik terdiri dari gugus amina terprotonasi baik gugus amina tunggal maupun multipel. Salah satu contoh lipid kationik tunggal adalah 2,3-bis[oleil]oksipropil trimetilammonium klorida (DOTMA). Beberapa contoh lipid kationik multipel adalah 2,3-dioleiloksi-N-[2(sperminkarboksaminino)etil]-N,N-dimetil-1-propanaminium trifloroasetat [DOSPA] dan dioktadesil amino glisil spermin (DOGS) yang bersifat lebih aktif, memuat DNA lebih banyak, dan lebih melindungi DNA dibandingkan dengan lipid monovalen (Simões et al., 2005)

Rantai hidrofobik dapat tersusun dari rantai diasil atau kolesterol. Secara umum, aktivitas transfeksi lipopleks menurun seiring meningkatnya rantai alkil dan saturasi. Bagian *linker* yang menghubungkan rantai hidrofobik dengan gugus polar akan menentukan aktivitas transfeksi serta tingkat toksisitas dari lipid

kationik. Lipid yang menggunakan senyawa eter sebagai *linker* seperti DOTMA bersifat lebih toksik dibandingkan dengan *linker* berupa senyawa ester. Linker yang digunakan hendaknya bersifat seimbang antara stabilitas dan biodegradasi agar lipopleks yang dihasilkan bersifat stabil dalam cairan biologis namun juga tidak memberikan efek toksik. Beberapa keuntungan dari penggunaan lipopleks adalah lipopleks memiliki muatan di permukaan sehingga bila dibandingkan dengan liposom netral, lipopleks tidak mudah teragregasi dan terflokulasi. Adanya muatan kationik ini juga dapat memicu interaksi lipopleks dengan sel endotel pada membran sel target dan meningkatkan internalisasi obat dengan cara pembentukan endosom (Bozzuto & Molinari, 2015; Simões et al., 2005)

Salah satu penelitian mengenai lipopleks adalah pengaruh pengikatan asam hialuronat (HA) dengan lipopleks terhadap penghantaran obat secara intravitreal untuk terapi gen retina. Dalam penelitian ini, lipid kationik 1,2-dioleil-3-trimetilammonium-propana (DOTAP) dan lipid fusogenik 1,2-dioleil-sn-glisero-3-fosfoetanolamin (DOPE) digunakan sebagai penyusun lipopleks.

Eksperimen tersebut telah berhasil menghasilkan lipopleks salut HA yang berukuran nanometer, bersifat monodispersi, dan dapat menjerap plasmid DNA. Lipopleks salut HA menunjukkan muatan permukaan yang berubah dari positif menjadi negatif akibat meningkatnya kandungan HA. Lipopleks-HA secara kovalen menunjukkan

mampu meningkatkan mobilitas intravitreal lipopleks dibandingkan dengan tanpa salut maupun lipopleks-HA secara elektrostatis. Pada uji transfeksi, lipopleks-HA secara kovalen memberikan efek ekspresi transgen delapan kali lebih besar dibandingkan dengan lipopleks tanpa salut HA dan lipopleks-HA secara elektrostatis. Dari penelitian tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa lipopleks yang disalut dengan HA secara kovalen berpotensi menjadi nanocarrier yang menjadikan untuk penghantaran gen (Martens et al., 2017).

Polimersom

Polimersom merupakan salah satu bentuk modifikasi liposom yang tersusun atas *block copolymer* amfifilik. *Block copolymer* amfifilik ini tersusun dari blok hidrofilik dan blok hidrofobik. Blok hidrofilik umumnya tersusun dari PEG sebagai pembentuk polimersom sekaligus untuk efek *stealth* yang dihasilkan. Blok hidrofobik umumnya tersusun dari poli(etil etilen) (PEE) atau poli(butadien) (PBD). Dalam pelarut polar, *block copolymer* secara spontan dapat membentuk vesikel tertutup dengan sifat bilayer seperti liposom. Dibandingkan dengan liposom, polimersom bersifat lebih stabil karena memiliki berat molekul yang lebih besar. Liposom juga memiliki keterbatasan jumlah dalam menginkooperasikan PEG sementara pada polimersom seluruh lapisan hidrofilik dapat tersusun oleh PEG sehingga memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap adsorpsi. Berat molekul polimersom

yang lebih besar juga menyebabkan polimersom bersifat lebih stabil secara mekanik dan *shear resistance*. Namun efek kestabilan yang lebih ini tidak selalu memberikan dampak positif terutama bila dikaitkan dengan sistem pelepasan obat. Efek *burst* dari polimersom dapat diperoleh dengan memanfaatkan polimer hidrofobik yang sensitif pH dan suhu. Polimer yang digunakan untuk membentuk polimersom umumnya bersifat sintetik sehingga modifikasi gugus fungsi polimersom lebih fleksibel dibandingkan dengan liposom (Dan, 2018; Zhang & Zhang, 2017;).

Salah satu contoh penelitian mengenai polimersom antara lain sintesis polimersom hibrid dengan nanopartikel emas secara *in situ* untuk senyawa kemoterapi hidrofilik. Dalam penelitian ini, nanopartikel emas digunakan sebagai *cross-linker* inorganik untuk mengagregasi polimer secara *in situ* sehingga membran hidrofobik bersifat lebih kompak dan menghindari kebocoran dari obat hidrofilik.

Secara *in vivo*, polimersom hibrid nanopartikel emas memiliki waktu sirkulasi yang lebih lama sehingga meningkatkan probabilitas penghantaran doksorubisin HCl menuju lokasi tumor. Hal tersebut juga dikonfirmasi dengan uji aktivitas antitumor secara *in vivo* pada tikus di mana polimersom hibrid nanopartikel emas dapat memberikan efek antitumor dengan efek samping yang lebih minim, ditandai dengan penurunan berat badan yang lebih minim dari polimersom tanpa kompleksasi dengan AuNP. Dari penelitian

tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa polimersom hibrid dengan nanopartikel yang dipreparasi secara in situ berpotensi menjadi vesikel yang lebih stabil dan meningkatkan supresi tumor (Fu et al., 2017).

KESIMPULAN

Beberapa contoh modifikasi liposom yang sekarang banyak dikembangkan adalah liposom sensitif lingkungan (suhu atau/dan pH), lipopleks, serta polimersom. Modifikasi liposom umumnya melibatkan modifikasi penggunaan bahan penyusun liposom (bersifat sensitif suhu, bermuatan kation, atau *block copolymer*). Modifikasi ini kemudian biasanya dilengkapi lagi dengan adanya reaksi kimia tambahan membentuk nanopartikel kompleks untuk meningkatkan kestabilan dan meningkatkan pelepasan obat di jaringan tumor.

DAFTAR PUSTAKA

Agarwal, R., et al. (2016). Liposomes in topical ophtalmic drug delivery: an update. *Drug Delivery*, 23(4), 1075-1091. DOI: 10.3109/10717544.2014.943336

Akbarzadeh, A., et al. (2013). Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research*, 8(102), 1-9. DOI: 10.1186/1556-276X-8-102

Alavi, M., et al. (2017). Application of various types of liposomes in drug delivery system. *Advanced Pharmaceutical*

Bulletin, 7(1), 3-9. DOI: 10.15171/apb.2017.002

- Allen, M., Cullis, P. R. (2013). Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, 36-48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.037>
- Banerjee, K., Banerjee, S., Mandal, M. (2015). Chapter 3: liposomes as drug delivery system. *Biological and Pharmaceutical Application of Nanomaterials*, 53-100. DOI: 10.1201/b18654-5
- Bozzuto, G., Molinari, A. (2015). Liposomes as nanomedical devices. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 975-999. <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S68861>
- Çağdaş, M., Sezer, A. D., & Bucak, S. (2014). Liposomes as Potential Drug Carrier Systems for Drug Delivery. InTech. doi: 10.5772/58459
- Dan, N. (2018). Chapter 1: Vesicle-based drug carriers: liposomes, polymersomes, and niosomes. *Design and Development of New Nanocarriers*, 1-55. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813627-0.00001-6>
- Deshpande, P. P., Biswas, S., Trochilin, V. P. (2013). Current trends in the use of liposomes for tumor targeting. *Nanomedicine*, 8(9), 1-32. DOI: 10.2217/nnm.13.118.
- Fotoran, W. L., et al. (2017). DNA-loaded cationic liposomes efficiently function as a vaccine against malarial proteins.

- Molecular Therapy: Methods & Clinical Development*, 7, 1-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.omtm.2017.08.004>
- Fu, J., Liang, L., Qiu, L. (2017). *In situ* generated gold nanoparticle hybrid polymersomes for water-soluble chemotherapeutics: inhibited leakage and pH responsive intracellular release. *Advanced Functional Materials*, 1604981, 1-12. DOI: [0.1002/adfm.201604981](http://dx.doi.org/10.1002/adfm.201604981)
- Huang, Z., et al. (2014). Progress involving new techniques for liposome preparation. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9, 176-182. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2014.06.001>
- Kim, J. (2016). Liposomal drug delivery system. *Journals of Pharmaceutical Investigation*, 46, 387-392. DOI: [10.1007/s40005-016-0260-1](http://dx.doi.org/10.1007/s40005-016-0260-1)
- Kneidl, B., et al. (2014). Thermosensitive liposomal drug delivery systems: state of the art review. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 4387-4398. <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S49297>
- Martens, T. F., et al. (2017). Effect of hyaluronic acid-binding to lipoplex on intravitreal drug delivery for retinal gene therapy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103, 27-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2017.02.027>
- Monteiro, N., et al. (2014). Liposomes in tissue engineering and regenerative medicine. *Journal of The Royal Society*, 11, 1-24. DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2014.0459>
- Riaz, M. K., et al. (2018). Surface functionalization and targeting strategies of liposomes in solid tumor therapy: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 195, 1-27. DOI: [10.3390/ijms19010195](http://dx.doi.org/10.3390/ijms19010195)
- Simões, S., et al. (2005). Cationic liposomes for gene delivery. *Expert Opinion Drug Delivery*, 2(2), 273-254.
- Wang, Z., et al. (2016). Preparation, characterization, and efficacy of thermosensitive liposomes containing paclitaxel. *Drug Delivery*, 23(4), 1222-1231. <https://doi.org/10.3109/10717544.2015.1122674>
- Zhang, X., Zhang, P. (2017). Polymersomes in nanomedicine – a review. *Current Nanoscience*, 13, 124-129. DOI: [10.2174/1573413712666161018144519](http://dx.doi.org/10.2174/1573413712666161018144519)
- Zylberberg, C., Matosevic, S. (2016). Pharmaceutical liposomal drug delivery: a review of new delivery systems and a look at the regulatory landscape. *Drug Delivery*, 23(9), 3319-3329. DOI: [10.1080/10717544.2016.117](http://dx.doi.org/10.1080/10717544.2016.117)