

Formulasi Sediaan Liposom Nimodipin: Studi Pengaruh Komposisi Lipida Terhadap Efisiensi Inkorporasi Nimodipin dan Stabilitas Ukuran Partikel Liposom

*I Gusti Ngurah Saskara Putra¹, Sasanti Tarini Darijanto², Yeyet Cahyati Soemirtapura²

¹ Bagian RND PT Kalbe Farma Tbk, Bekasi

² Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganesha 10 Bandung

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan formula sediaan liposom nimodipin. Secara khusus penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh jumlah fosfolipida dan kolesterol terhadap efisiensi inkorporasi nimodipin dan stabilitas ukuran partikel liposom. Liposom multilamellar dihasilkan menggunakan metode lapis tipis. Pengcilan ukuran partikel dilakukan menggunakan metode homogenisasi tekanan tinggi. Karakterisasi ukuran partikel dilakukan menggunakan metode *light scattering*. Penetapan efisiensi inkorporasi nimodipin dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV derivatif. Hasil penelitian menunjukkan perbandingan mol fosfolipida/nimodipin (20:1) merupakan perbandingan optimal yang memberikan efisiensi inkorporasi nimodipin dalam liposom mendekati 100%. Rasio mol ini juga memberikan stabilita ukuran partikel yang baik pada uji *freeze thaw*.

Kata kunci: liposom, nimodipin, fosfolipida, fosfatidilkolin, kolesterol

Abstract

Purpose of this research is to develop liposome formulation of nimodipine. The research specifically conducted to determine effect of phospholipid and cholesterol on nimodipine incorporation efficiency and particle size stability. Multilamellar liposome was prepared using thin-layer method. Reduction of particle size was done by high-pressure homogenization. Light scattering method was used to characterize particle size of liposome. Evaluation of incorporation efficiency was performed using UV derivative spectroscopic method. The result showed that molar ratio of phospholipid:nimodipine (20:1) was an optimal ratio in liposome formulation which could give incorporation efficiency of nimodipine approached to 100%. This ratio also provided good particle size stability in freeze thaw test.

Keywords: liposome, nimodipine, phospholipid, phosphatidylcholine, cholesterol

Pendahuluan

Liposom merupakan sistem penghantaran obat yang unik karena mampu membawa senyawa dengan rentang polaritas yang lebar (Lasic 1998). Senyawa hidrofilik akan terenkapsulasi pada daerah berair sedangkan senyawa lipofilik akan terinkorporasi dalam membran lipida. Penggunaan liposom secara signifikan mampu meningkatkan kelarutan senyawa lipofilik, sehingga senyawa tersebut mampu diformulasikan jauh diatas kelarutannya (Liu 2000).

Nimodipin merupakan obat golongan pemblokade saluran kalsium turunan dihidropiridin yang digunakan untuk pencegahan dan pengobatan defisit neurologik iskemik yang disebabkan vasospasme serebral setelah perdarahan subaraknoid (SAH). Penggunaan klinis nimodipin oral, dibatasi oleh sifat-sifat yang tidak menguntungkan seperti nimodipin secara ekstensif mengalami metabolisme lintas pertama sehingga memiliki bioavailabilitas oral yang rendah dan hanya sebagian kecil dosis dikirim ke otak. Nimodipin memiliki kelarutan yang sangat

rendah yaitu 3,86 µg/ml sehingga untuk mendapatkan sediaan injeksi diperlukan formulasi yang mengandung pelarut organik, seperti etanol (Soliman *et al.* 2010). Sediaan nimodipin i.v yang tersedia di pasaran (Nimotop®) mengandung etanol dengan kadar 23,7 – 25,0 % (50 g/dosis harian) (Anonim 2007). Pemberian injeksi yang mengandung etanol menyebabkan reaksi lokal yang merugikan, seperti nyeri dan peradangan pada daerah injeksi. Selain itu penggunaan etanol sangat berbahaya bagi pasien yang menderita alkoholisme, pasien yang mengalami gangguan metabolisme alkohol, wanita hamil dan menyusui, anak-anak serta kelompok pasien yang mengalami gangguan hati. Oleh karena itu diperlukan formula alternatif nimodipin injeksi yang relatif aman dan efektif.

Pada penelitian ini dilakukan pengembangan sediaan liposom untuk tujuan peningkatan kelarutan nimodipin sehingga dapat dihasilkan formula tanpa penggunaan pelarut organik. Komponen bahan pembentuk liposom (fosfolipida) dan komponen penstabil lainnya, seperti kolesterol akan

* Penulis korespondensi, e-mail: kara_goody@yahoo.com

mempengaruhi tipe serta efisiensi inkorporasi liposom (Liu 2000). Pada penelitian ini dilakukan studi pengaruh jumlah fosfolipida dan kolesterol terhadap efisiensi inkorporasi nimodipin dan stabilitas ukuran partikel liposom.

Percobaan

Bahan

Nimodipin *pyrogen free* (Lusochimica Spa), *soy* fosfatidilkolin, SPC (Lipoid), kolesterol (Sigma), sodium klorida (Merck), etanol (Sigma), metanol (Merck), kloroform (Merck), alkohol anhidrat (Merck).

Alat

Alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium (Pyrex), timbangan elektronik XP603S (Mettler Toledo), timbangan analitik XP205 (Mettler Toledo), *rotary evaporator* EL 131 (Buchi), *waterbath* 461 (Buchi), pompa vakum (Gast), kriolator 700 (Buchi), ultrasonik Elmasonic S 900 (Elma), vortex Maxi Mix II (Barnstead), sentrifugasi Rotofix 32A (Hettich), pH meter Metrohm 774, oven (Memert), lemari es (LG), UV-Vis spektrofotometer 1601 (Shimadzu), mikroskop optik Nikon E50iPol yang dilengkapi dengan kamera digital Nikon DS-Fi1 *digital sight* DS-U2 dan *software* NIS Element D, Delsa™ nano C *particle analyzer* (Beckman Coulter), *high pressure homogenizer* Panda Plus (GEA Niro Saovi).

Prosedur

Preparasi Liposom dengan Metode Lapis Tipis

Komponen lipida dan nimodipin dilarutkan dalam pelarut atau campuran pelarut organik kemudian diapakan dalam *rotary evaporator vacuum* pada suhu $60 \pm 3^\circ\text{C}$ pada tekanan (-) 20 inchHg selama 120 menit untuk memperoleh film lapis tipis. Film lapis tipis yang diperoleh kemudian dihidrasi menggunakan larutan salin (NaCl 0,9%) dan diaduk kencang dengan kecepatan 200 rpm selama 30 menit sehingga terbentuk liposom tipe MLV (*multilamellar vehicle*).

Pengecilan Ukuran Partikel Liposom

Untuk mengurangi ukuran dan lamellaritas liposom diperlukan energi yang mencukupi untuk “memecah” liposom. Ada beberapa metode yang dapat dilakukan untuk mengecilkan ukuran partikel liposom antara lain ini sonikasi, ekstrusi membran dan homogenisasi tekanan tinggi (Philiport dan Schuber 1994). Pada penelitian ini dilakukan metode homogenisasi tekanan tinggi untuk mengecilkan partikel liposom nimodipin. Liposom yang diperoleh dari preparasi di atas dihomogenisasi dengan tekanan tinggi (200 -100 bar). Aliquot liposom yang dihasilkan ditampung untuk penelitian selanjutnya

Pengamatan Morfologis Liposom dengan Teknik Mikroskopis

Analisa morfologi dilakukan menggunakan mikroskop polarisasi Nikon yang dilengkapi *software* NIS Element D. Sejumlah kecil sampel ($\pm 5 \mu\text{l}$) diteteskan pada kaca objek kemudian ditutup menggunakan kaca penutup membentuk lapisan film homogen. Pengamatan dilakukan pada perbesaran 40 sampai 1000 kali untuk melihat morfologi dan keberadaan kristal dalam sampel. Keberadaan kristal teramati dengan terjadinya perubahan warna dan struktur yang khas pada preparat saat cahaya yang masuk ke lensa dipolarisasikan pada sudut tertentu.

Pengukuran Partikel dan Distribusi Ukuran Partikel Liposom

Ukuran dan distribusi ukuran partikel liposom diukur menggunakan Delsa™ nano C *particle analyzer* (Beckman Coulter). Prinsip alat ini didasarkan pada gerak Brown dimana partikel berukuran kecil akan berdifusi lebih cepat dibandingkan partikel berukuran besar yang akan mempengaruhi intensitas hamburan cahaya (*dynamic light scattering*). Sampel liposom dimasukkan ke dalam cuvet (*disposable cell*) dan distribusi ukuran partikel dibaca pada intensitas cahaya 3000 sampai 30000.

Pengukuran Zeta Potensial

Sifat permukaan liposom sangat ditentukan oleh komposisi lipida yang digunakan. Terdapat lipida dengan muatan positif, negatif ataupun netral. Zeta potensial permukaan partikel akan mempengaruhi stabilitas ukuran partikel liposom. Pada penelitian ini zeta potensial liposom diukur menggunakan Delsa™ nano (Beckman Coulter).

Pengukuran Efisiensi Inkorporasi Nimodipin dengan Spektrofotometer

Penetapan kadar nimodipin pada sendimen dan supernatan dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV Derivatif. Untuk memisahkan nimodipin tidak terinkorporasi dari liposom, dilakukan pemisahan dengan metode sentrifugasi. 10 ml aliquot liposom disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan (liposom) dan sendimen (nimodipin bebas) diambil terpisah secara perlahan menggunakan pipet dan diencerkan menggunakan alkohol anhidrat sebanyak 5 kali sampai terbentuk larutan jernih kemudian diukur pada panjang gelombang 392 nm menggunakan blanko alkohol anhidrat.

Efisiensi inkorporasi nimodipin dalam liposom dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ obat terinkorporasi} = \frac{\text{jumlah obat dalam supernatan}}{\text{jumlah obat dalam aliquot}} \times 100\%$$

Studi Pengaruh Jumlah Fosfolipida terhadap Inkorporasi Nimodipin

Fosfolipida dengan berbagai variasi rasio mol diformulasikan menggunakan metode lapis tipis membentuk liposom. Morfologi, ukuran partikel dan efisiensi inkorporasi nimodipin dalam liposom kemudian dievaluasi untuk menentukan jumlah mol fosfolipida yang paling optimal. Pada studi ini jenis fosfolipida yang digunakan adalah fosfatidilkolin alami yang berasal dari kedelai atau *Soy fosfatidilkolin* (SPC).

Studi Pengaruh Kolesterol terhadap Inkorporasi Nimodipin dan Stabilitas Ukuran Partikel Liposom

Liposom dengan efisiensi inkorporasi optimal dari studi di atas kemudian ditambahkan kolesterol dengan berbagai perbandingan mol kolesterol/fosfolipida (0:100 sampai 50:50). Morfologi, ukuran partikel dan efisiensi inkorporasi nimodipin dalam liposom kemudian dievaluasi untuk mengetahui pengaruh kolesterol terhadap efisiensi inkorporasi liposom. Untuk mengetahui pengaruh kolesterol terhadap stabilitas ukuran partikel liposom dilakukan uji *freeze thaw* dan evaluasi terhadap perubahan ukuran partikel yang terjadi.

Hasil dan Pembahasan

Preparasi Liposom dengan Metode Lapis Tipis

Metode lapis tipis dipilih untuk preparasi liposom nimodipin karena metode ini dianggap metode yang paling sesuai untuk pembuatan liposom dari senyawa lipofilik (*water insoluble drug*) pada skala laboratorium. Metode ini dapat diaplikasikan pada rentang skala yang lebar yaitu 5 ml sampai dengan 20 liter, relatif mudah diterapkan serta mampu menghasilkan vesikel yang relatif stabil selama penyimpanan. Kelemahan metode ini adalah tidak *scalable*, serta memberikan distribusi ukuran partikel yang tidak seragam.

Pengecilan Ukuran Partikel Liposom

Ukuran dan distribusi ukuran partikel merupakan salah satu parameter kritis untuk sediaan injeksi i.v. Mengacu pada *United States Pharmacopeia* (USP) 31, ukuran partikel merupakan parameter yang kritikal untuk menjamin keamanan dan stabilitas injeksi lipida. Terdapat dua parameter penting yaitu *lipid globule mean droplet size* (MDS) atau ukuran partikel harus kurang dari 500 nm dan jumlah partikel liposom yang berukuran di atas 5 µm harus kurang dari 0,05%. Semakin tinggi jumlah partikel yang memiliki ukuran di atas 5 µm mengindikasikan ketidakstabilan fisik sediaan dan pemberian injeksi i.v dengan ukuran di atas 5 µm dapat menyebabkan

emboli pada paru-paru. Semakin kecil ukuran partikel liposom akan semakin baik untuk penggunaan i.v. Oleh karena itu pada penelitian ini ditetapkan persyaratan ukuran partikel liposom adalah kurang dari 200 nm dan tidak ada partikel dengan ukuran di atas 500 nm untuk memudahkan proses sterilisasi dengan filtrasi membran 0,2µm.

Pada penelitian ini digunakan metode homogenisasi tekanan tinggi untuk mengecilkan ukuran partikel liposom. Prinsip metode ini adalah partikel dipaksa lewat melalui suatu celah yang sangat sempit menggunakan tekanan yang tinggi. Perbedaan tekanan akan mempengaruhi intensitas dan kekuatan tumbukan antar partikel sehingga akan mempengaruhi ukuran partikel liposom yang dihasilkan.

Hasil evaluasi ukuran partikel (Tabel 1), menunjukkan semakin tinggi tekanan homogenisasi maka ukuran partikel yang dihasilkan akan semakin kecil. Pada tekanan 600 bar sudah diperoleh ukuran partikel rata-rata dibawah 200 nm dan tidak ada partikel berukuran di atas 500 nm. Oleh karena itu tekanan ini dianggap optimal karena merupakan tekanan terendah yang memberikan ukuran dan distribusi yang baik

Pengukuran Efisiensi Inkorporasi Nimodipin dengan Metode Spektrofotometri UV Derivatif

Penetapan kadar nimodipin dilakukan dengan metode spektrofotometri UV dengan teknik derivatif turunan pertama. Teknik ini dilakukan untuk meningkatkan selektifitas pembacaan karena hasil *scan* spektrum menunjukkan tumpang tindih antar plasebo dengan nimodipin pada λ_{max} . Hasil *scan* spektrum nimodipin dan plasebo dengan teknik derivatif menunjukkan pemisahan serapan pada panjang gelombang maksimal nimodipin, 392 nm (Gambar 1).

Untuk membuktikan bahwa teknik pengukuran ini dapat digunakan untuk penetapan kadar nimodipin maka dilakukan validasi metode yang meliputi uji linieritas, akurasi dan presisi (keterulangan). Uji linieritas menunjukkan metode ini mampu mengukur nimodipin secara linier (r^2 : 0,9996) pada rentang kadar 8 ppm sampai dengan 48 ppm (Gambar 2). Uji akurasi dan presisi (keterulangan) menunjukkan metode pengujian yang dilakukan memberikan *recovery* yang masih dapat diterima (95,0-105,0%) serta presisi yang baik (RSD < 0,5%) (Tabel 2). Sehingga metode ini dapat digunakan untuk pemeriksaan kadar nimodipin dalam liposom. Untuk menentukan efisiensi inkorporasi nimodipin dalam liposom, nimodipin total, nimodipin dalam endapan maupun nimodipin dalam supernatan ditetapkan kadarnya dengan metode di atas.

Tabel 1. Hasil Evaluasi Fisik Liposom Setelah Homogenisasi Tekanan Tinggi

Parameter Pengamatan	Tekanan Sekunder: 50 Bar				
	Tekanan Primer:				
	200 bar	400 bar	600 bar	800 bar	1000 bar
Ukuran partikel (nm)	532.6±512.8	328.4±281.5	197.5±104.1	162.2±76.2	133.8.2±67.3
Cumulant diameter (nm)	279.1	188.0	147.9	136.3	106.3
PI	0.334	0.334	0.235	0.210	0.196

Tabel 2. Hasil Uji Akurasi dan Presisi

Kadar Teorits (%)	Rata-rata kadar terukur (%)	RSD (%)	% Recovery
80,00 (32 ppm)	83,35	0,00	104,19
100,00 (40 ppm)	103,70	0,70	103,0
120,00 (48 ppm)	123,20	0,50	102,70

Tabel 3. Formula Liposom Nimodipin F1, F2, F3, F4 dan F5

No	Nama Bahan	Formula				
		F1	F2	F3	F4	F5
1	Nimodipin (mg)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2	Lipoid SPC (mg)	0,37	1,85	3,7	7,4	11,1
3	Etanol (µl)*	18,5	92,5	185	370	555
4	Larutan salin <i>ad</i> (µl)	1000	1000	1000	1000	1000
Rasio mol fosfolipida: nimodipin		1:1	5:1	10:1	20:1	30:1

Catatan:

*) Bukan komponen sediaan, akan hilang selama proses penguapan.

Bobot molekul lipoid SPC: 775,037 g/mol; bobot molekul nimodipin: 418,4 g/mol.

Perbandingan jumlah fosfolipida: pelarut = 20 mg/ml

Tabel 4. Hasil Evaluasi Fisik Liposom Formula F1, F2, F3, F4 dan F5

Parameter evaluasi	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
Ukuran partikel (nm)	Peak I: 122,9±64,6 Peak II: 1.042,7± 447,6 Peak III 1.3197,1± 3.275,8	Peak I: 122,5± 66,6 Peak II: 3.397,0±850,4	Peak I: 149,8±90,5	166,0 ±84,3	177,7 ±111,1
Cumulant diameter (nm)	963,2	376,7	118,1	117,3	123,2
PI	0,403	0,176	0,275	0,257	0,260
pH	5,77	5,69	5,69	5,36	5,25
Osmo (mosm/kg)	293	302	291	290	298

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Kadar dan Efisiensi Inkorporasi Liposom Nimodipin Formula F1, F2, F3, F4 dan F5

Pengukuran Kadar	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
Supernatan	UDL *	29,58±1,50	49,10±1,20	101,52 ± 0,56	105,10 ± 0,76
Endapan	57,08±3,12	53,15±2,30	51,43±0,30	UDL *	UDL *
Kadar Total	70,70±0,81	85,43±0,47	100,78±0,30	102,01 ± 0,41	106,09 ± 0,47
% Inkorporasi	19,27	34,63	48,72	99,52	99,07

*) UDL: *under detection limit*. Metode analisa tidak mampu membaca kadar di bawah 20 % (8 ppm).

Tabel 6. Formula Liposom Nimodipin F6, F7, F8, F9 dan F10

No	Nama bahan	Formula				
		F6	F7	F8	F9	F10
1	Nimodipin (mg)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
2	Lipoid SPC (mg)	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
3	Kolesterol (mg)	0,369	0,923	1,66	2,58	3,69
4	Etanol (μ l) *	370	370	470	570	670
5	Larutan salin <i>ad</i> (μ l)	1000	1000	1000	1000	1000
	Perbandingan mol kolesterol: fosfolipida	10:90	20:80	30:70	40:60	50:50

*) Bukan komponen sediaan, akan hilang selama proses penguapan.

Bobot molekul lipoid SPC: 775,037 g/mol; bobot molekul nimodipin: 418,4 g/mol; bobot molekul kolesterol: 386,654 g/mol.

Tabel 7. Hasil Evaluasi Fisik Liposom Nimodipin Formula F4, F6, F7, F8, F9, F10

Parameter Evaluasi	Formula				
	F6	F7	F8	F9	F10
Ukuran partikel (nm)	178,7 \pm 110,9	187,2 \pm 147,9	168,1 \pm 108,6	161,2 \pm 92,1	Peak I 149,9 \pm 68,7 Peak II 1.707,9 \pm 468,9
Cumulant diameter (nm)	123,9	118,9	125,9	140,8	210,7
PI	0,273	0,282	0,284	0,268	0,170
pH	5,11	5,42	5,25	5,42	5,38
Osmo (mosm/kg)	318	308	315	310	295
Zeta	-4,41	-5,20	-2,99	-1,11	-2,13

Tabel 8. Hasil Pemeriksaan Kadar dan Efisiensi Inkorporasi Liposom Nimodipin Formula F6, F7, F8, F9 dan F10

Pengukuran kadar	Formula				
	F6	F7	F8	F9	F10
Supernatan	94,15 \pm 1,83	96,18 \pm 1,34	94,03 \pm 3,48	87,52 \pm 2,00	61,37 \pm 1,96
Endapan	UDL*	UDL*	UDL*	UDL*	37,81 \pm 2,01
Total	101,64 \pm 2,08	103,11 \pm 0,47	102,01 \pm 0,40	100,78 \pm 2,16	99,30 \pm 3,44
% inkorporasi	92,63	93,28	92,18	86,84	61,80

*) UDL: *under detection limit*. Metode analisa tidak mampu membaca kadar di bawah 20 % (8 ppm).

Tabel 9. Hasil evaluasi fisik liposom nimodipin formula F4 dan F6 setelah uji *frezze thaw*.

Parameter	Formula	
	F4	F6
Ukuran partikel (nm)	154,5 \pm 107,9	161,4 \pm 118,5
Cumulant diameter (nm)	105,5	105,2
PI	0,274	0,276
pH	5,42	5,11
Osmo (mosm/kg)	308	318

Studi Pengaruh Komposisi Fosfolipida terhadap Inkorporasi Nimodipin

Efisiensi inkorporasi nimodipin dalam liposom sangat ditentukan oleh komposisi lipida penyusun membran liposom. Perbedaan rasio molaritas fosfolipida terhadap nimodipin sangat mempengaruhi jumlah nimodipin yang terinkorporasi dalam liposom.

Semakin tinggi rasio fosfolipida dalam liposom akan meningkatkan kemampuan inkorporasi liposom terhadap senyawa yang bersifat tidak larut dalam air (*insoluble drugs*) (Liu 2000). Untuk mengetahui komposisi fosfolipida yang optimal yang memberikan inkorporasi nimodipin maksimal, dilakukan optimasi rasio molar fosfolipida terhadap

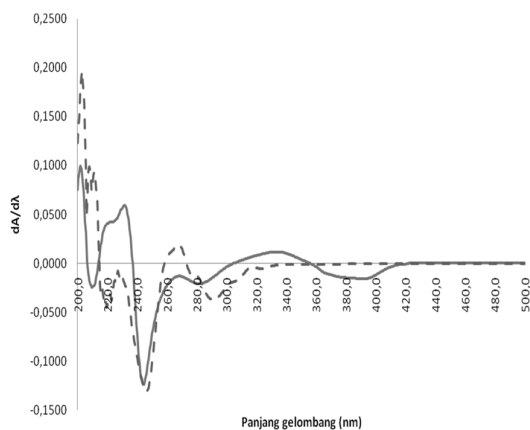
molar nimodipin (Tabel 3). Jenis fosfolipida yang digunakan adalah fosfolipida alami yang berasal dari kedelai dengan komposisi fosfatidilkolin \pm 95% (Lipoid SPC).

Tabel 10. Hasil Pemeriksaan Kadar dan Efisiensi Inkorporasi Liposom Nimodipin Formula F4 dan F6 Setelah Uji *Freeze-Thaw*

Parameter	Formula	
	8/22	9/25
Supernatan	93,37 \pm 1,01	92,70 \pm 0,4
Endapan	UDL*	UDL*
Total	95,67 \pm 0,55	95,99 \pm 0,4
% inkorporasi	97,67	96,58

*) UDL: *under detection limit*. Metode analisa tidak mampu membaca kadar di bawah 20% (8 ppm).

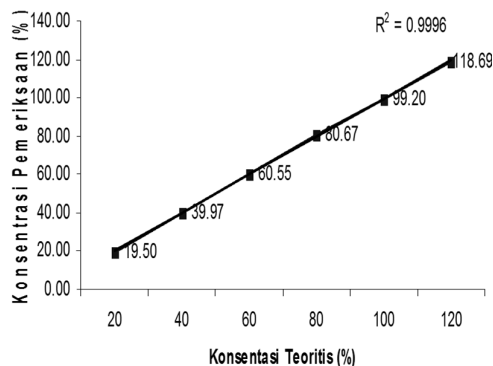
Evaluasi morfologis liposom memberikan informasi secara kualitatif mengenai efisiensi inkorporasi nimodipin. Keberadaan kristal, menunjukkan belum sepenuhnya proses inkorporasi nimodipin. Hasil pengamatan menunjukkan inkorporasi nimodipin secara sempurna mulai terjadi pada perbandingan mol fosfolipida/nimodipin (20:1), yaitu tidak teramatinya kristal nimodipin pada sediaan (Gambar 3).



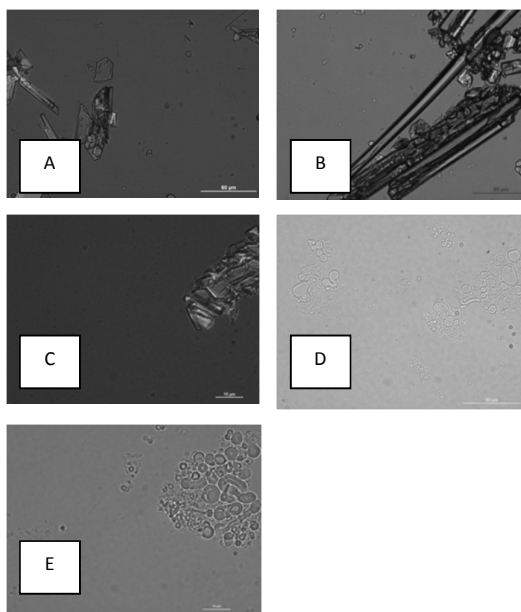
Gambar 1. Spektrum derivatif nimodipin dan plasebo pada panjang gelombang 200 sampai 500 nm. Keterangan: — Standard; - - Plasebo.

Hasil evaluasi ukuran partikel menunjukkan formula F4 dan F5 memiliki ukuran partikel rata-rata < 200 nm dan distribusi ukuran partikel yang baik. Sedangkan formula F1 dan F2 yang pada pengamatan morfologis menunjukkan adanya kristal memiliki distribusi ukuran partikel yang tidak homogen (Tabel 4). Dari hasil evaluasi osmolaritas (osmo) diketahui

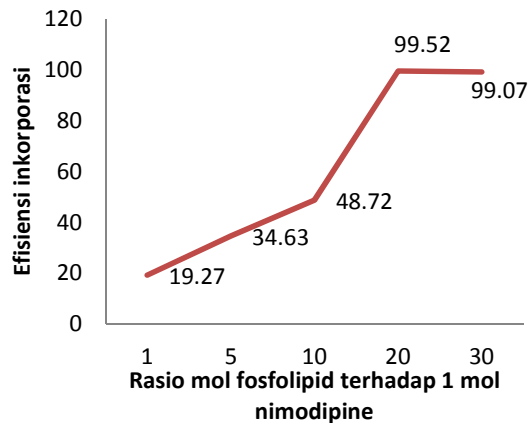
perbedaan jumlah fosfolipida tidak mempengaruhi osmolaritas sediaan, tetapi lebih dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Penggunaan larutan saline sebagai pelarut mampu memberikan sediaan yang isotonis.



Gambar 2. Uji linieritas.



Gambar 3. Gambaran mikroskopis liposom nimodipin formula F1, F2, F3, F4 dan F5. Catatan: Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop polarisasi dengan pembesaran total 1000 kali terhadap sampel yang belum mengalami pengecilan ukuran partikel. Gambar (A) liposom nimodipin formula F1, (B) liposom nimodipin formula F2, (C) liposom nimodipin formula F3, (D) liposom nimodipin formula F4, (E) liposom nimodipin formula F5. Kristal nimodipin tidak muncul mulai formula F4.



Gambar 4. Grafik hubungan efisiensi inkorporasi liposom dengan rasio fosfolipida.

Sesuai dengan hasil evaluasi fisik, hasil pemeriksaan kadar menunjukkan formula F4 dan F5 memberikan efisiensi inkorporasi ~100 %. Sedangkan formula F1, F2 dan F3 memberikan efisiensi inkorporasi < 50% (Tabel 5). Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah fosfolipida yang optimal yang mampu menginkorporasi nimodipin secara sempurna adalah pada perbandingan mol fosfolipida/nimodipin 20:1 (Gambar 4).

Studi Pengaruh Kolesterol terhadap Stabilitas Ukuran Partikel Liposom

Dari studi yang dilakukan Liang *et al.* (2004) diketahui kolesterol dapat meningkatkan stabilitas ukuran partikel liposom dengan meningkatkan *bending* modulus dan zeta potensial absolut liposom. Untuk itu pada penelitian ini dilakukan studi pengaruh kolesterol terhadap stabilitas ukuran partikel liposom (Tabel 6).

Hasil pengamatan morfologis menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah kolesterol, menyebabkan semakin mudah teramati keberadaan kristal dalam preparat bahkan pada perbandingan mol fosfolipida/kolesterol (50:50) teramati muncul gumpalan kolesterol yang tidak terdispersi homogen. Pada pemeriksaan efisiensi inkorporasi (Tabel 8) juga terlihat penambahan kolesterol menyebabkan penurunan efisiensi inkorporasi nimodipin, semakin tinggi jumlah kolesterol, semakin rendah efisiensi nimodipin.

Penurunan efisiensi inkorporasi ini kemungkinan disebabkan karena penambahan kolesterol menyebabkan pendesakan "salting out" nimodipin dari membran liposom karena kolesterol menduduki posisi yang sama (terinkorporasi) dalam membran tetapi memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan

nimodipine (*like dissolve like*). Pada jumlah mol kolesterol sebanding dengan mol fosfolipida, membran liposom tidak mampu lagi menerima kolesterol sehingga kolesterol terdispersi dalam media akibat kelarutannya yang rendah dalam media dan tidak mampu membentuk struktur vesikel seperti fosfolipida (Liang *et al.* 2004).

Hasil evaluasi zeta potensial menunjukkan penambahan kolesterol meningkatkan zeta potensial absolut liposom nimodipin sesuai dengan teori yang disampaikan Liang *et al.* (2004). Zeta potensial tertinggi terukur pada formula F7, tetapi penambahan kolesterol dengan jumlah yang lebih tinggi cenderung menyebabkan penurunan zeta potensial (Tabel 7). Hal ini kemungkinan disebabkan sudah tidak homogenya distribusi liposom, akibat munculnya gumpalan kolesterol sehingga zeta potensial yang terukur merupakan gabungan dari zeta potensial liposom dan partikel kolesterol.

Untuk melihat pengaruh kolesterol terhadap stabilitas ukuran partikel dilakukan uji *freeze thaw* pada suhu (minus) 2°C dan 40 °C sebanyak 3 siklus terhadap formula F4 dan F6. Hasil pengamatan morfologis menunjukkan tidak teramati adanya pertumbuhan kristal nimodipin dalam sediaan setelah uji *freeze thaw*. Hasil evaluasi distribusi ukuran partikel juga menunjukkan tidak terjadi peningkatan ukuran partikel liposom baik pada formula dengan kolesterol dan tanpa kolesterol (Tabel 9). Begitu pula hasil pengukuran kadar dan efisiensi inkorporasi nimodipin menunjukkan efisiensi inkorporasi nimodipin masih baik setelah uji *freeze thaw* (Tabel 10).

Dari studi ini diketahui bahwa sediaan liposom nimodipin masih stabil pada uji stabilitas *freeze thaw* dan penambahan kolesterol tidak mempengaruhi stabilitas ukuran partikel liposom. Penambahan kolesterol dapat menurunkan efisiensi inkorporasi nimodipin dalam liposom.

Kesimpulan

Dari hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sistem liposom mampu meningkatkan kelarutan nimodipin dalam air sehingga diperoleh sediaan dengan konsentrasi 10 mg/50 ml. Liposom dapat meningkatkan kelarutan nimodipin dengan menginkorporasi nimodipin dalam membran liposom. Perbandingan mol fosfolipida/nimodipin (20:1) merupakan perbandingan optimal yang memberikan efisiensi inkorporasi ~100%. Rasio molar ini juga memberikan stabilitas ukuran dan distribusi ukuran partikel yang baik pada uji *freeze thaw*. Penambahan kolesterol menyebabkan penurunan efisiensi inkorporasi nimodipin.

Daftar Pustaka

Anonim, 2007, Nimotop Product Information, Bayer AG, Germany.

Lasic DD, 1998, Novel Application of Liposome, *Tibtech*, 16, 307-321.

Liang X, Mao G, Simon KY, 2004, Mechanical Properties and Stability Measurement of Colesterol-Containing Liposome on Mica by Atomic Force Microscopy, *J. Colloid Interface Sci.* 278: 53-62

Liu R, 2000, Water-Insoluble Drug Formulation, Taylor&Francis, New York.

Philipot JR, Schuber F, 1994, Liposome as Tools in Basic Research and Industry, CRC Press, USA.

Soliman GM, Sharma R, Choid AO, Varsney SK, Winnik FM, Kakkar AK, Maysinger D, 2010, Tailoring the Efficacy of Nimodipine Drug Delivery Using Nanocarrier Based on A2B Miktoarm Star Polymer, *Biomaterials*, 31, 8382-8392.

USP Convention, 2005, The United States Pharmacopoeia 31th edn, The National Formulary 26th rev., United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville.