

Penghantaran Obat melalui Kulit: Teknologi Vesikel Liposome dan Analognya

Ajeng Illastria Rosalina, Erny Sagita, Iskandarsyah

Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Jawa Barat, Indonesia
Alamat Korespondensi: iskandarsyah_ui@farmasi.ui.ac.id

Abstrak

Pengembangan teknologi farmasi selalu didorong untuk mengatasi berbagai keterbatasan sediaan yang telah ada sebelumnya. Salah satunya adalah teknologi penghantaran melalui rute transdermal yang memiliki berbagai keuntungan dibandingkan rute lain. Namun, dibalik keuntungan tersebut, penghantaran melalui jalur transdermal juga memiliki banyak hambatan dalam menghantarkan zat aktif. Salah satu hambatan tersebut adalah struktur kulit yang kompleks sebagai barrier tubuh, sehingga diperlukan teknologi untuk mengatasi permasalahan tersebut. Salah satu solusinya adalah dengan peningkatan penetrasi. Liposom merupakan sistem peningkatan penetrasi yang banyak dieksplorasi karena kemampuannya menghantarkan obat hidrofilik dan hidrofobik. Berbagai pengembangan dilakukan untuk meningkatkan kemampuan struktur ini dengan variasi bahan dan metode pembuatan yang menghasilkan variasi karakteristik sistem ini. Dalam kajian ini, penulis membahas berbagai generasi baru liposom terkait keunggulan dan keterbatasannya serta metode pembuatan dan evaluasi sediaan.

Kata Kunci: Liposome, peningkatan penetrasi, vesikel

Transdermal Drug Delivery Technology: Liposome Vesicle and Its Analogs

Abstract

Pharmaceutical development always aims to overcome various limitations of pre-existing preparations. One of the latest technology is the transdermal delivery route which has many advantages compared to other routes. However, despite their benefits, there are many obstacles in delivering active substances via the transdermal route. One of these obstacles is the complex structure of the skin as a body barrier. Therefore, delivery technology is needed to overcome this problem. One solution is to enhance penetration. Liposome is one of the penetration enhancer systems that has been extensively explored. The liposome structures can deliver both hydrophilic and hydrophobic drugs. Various developments have been discovered to increase the capability of this structure with variations in materials and manufacturing methods. In the present review, we discuss some problems that impact drug delivery by liposomes. In addition, we discuss a new generation of liposomes, which is utilized for decreasing the limitation of the conventional liposome.

Keywords: Liposome, vesicle, penetration enhancer

Pendahuluan

Kulit merupakan organ tubuh manusia yang memiliki luas paling besar dan tersebar di hampir seluruh bagian tubuh. Kulit berlaku sebagai barrier pelindung dari lingkungan luar. Rute penghantaran obat melalui transdermal atau *Transdermal Drug Delivery System* (TDDS) merupakan metode pemberian obat secara topikal yang tidak invasif. Obat diberikan secara topikal untuk kemudian berpenetrasi menembus stratum korneum menuju epidermis hingga ke lapisan dermis dan akhirnya ke

pembuluh darah agar dapat mencapai sirkulasi sistemik.¹ Sistem ini memiliki berbagai keuntungan seperti pencegahan metabolisme lintas pertama, kemudahan dalam penggunaan secara mandiri, dan kontrol terhadap pelepasan obat.²

Obat yang diberikan melalui rute transdermal harus dapat menembus stratum korneum sebagai penghalang utama yang menyebabkan kulit sulit ditembus oleh zat dari luar.¹ Permeasi melalui transdermal dapat ditingkatkan melalui beberapa mekanisme yaitu mengganggu atau mengubah sifat fisik-kimia stratum korneum, interaksi dengan

How to Cite :

Rosalina, A. I, Sagita, E., Iskandarsyah. Penghantaran Obat melalui Kulit: Teknologi Vesikel Liposome dan Analognya. . J Kdoks Meditek, 2023; 29(1), 109-119. . Available from: <http://ejournal.ukrida.ac.id/ojs/index.php/Meditek/article/view/2428/version/2420> DOI: <https://doi.org/10.36452/jkdokmeditek.v29i1.2428>

interseluler dalam stratum korneum serta peningkatan penetrasi obat ke dalam lapisan stratum korneum.¹ Terdapat beberapa teknik untuk meningkatkan penetrasi obat menembus stratum korneum salah satunya dengan menggunakan pembawa vesikel.² Pembawa vesikel berbasis lipid terdiri dari berbagai jenis seperti liposom, transferosome, etosome, niosom dan fitosom. Vesikel sendiri merupakan partikel koloid dalam bentuk bilayer dari molekul amfifilik yang berperan sebagai pembawa obat sehingga membantu meningkatkan penetrasi obat.

Sistem vesikel yang pertama kali dikembangkan adalah liposome. Liposome memiliki struktur yang mirip dengan membran biologi karena terdiri atas fosfolipid dan kolesterol. Vesikel ini digunakan untuk menghantarkan molekul obat yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik. Peneliti terus melakukan penemuan untuk mengatasi kekurangan dari liposome baik dari segi stabilitas maupun peningkatan penetrasi, sehingga analog-analog liposome terus bermunculan seperti ethosome, transfersome, fitosom, dan niosome untuk mengatasi keterbatasan yang dimiliki oleh liposome.⁴

Liposome konvensional telah banyak dikembangkan dalam rute injeksi, oral, topikal dan transdermal.⁵ Dalam artikel ini khusus dibahas pengembangan untuk pemberian transdermal.

Tulisan ini dibuat untuk menjabarkan berbagai jenis teknologi vesikel untuk penghantaran transdermal sebagai perkembangan dari liposom konvensional termasuk membandingkan kelebihan dan keterbatasan masing-masing jenis vesikel. Juga dijelaskan berbagai metode pembuatan dan evaluasi sediaan secara garis besar.

Kandidat Obat yang Ideal untuk Penghantaran Transdermal

Salah satu keterbatasan dari pemberian obat melalui rute transdermal ialah tidak semua obat cocok untuk diberikan melalui rute tersebut. Hal ini dikarenakan sifat fisika-kimia obat sangat berpengaruh terhadap kesuksesan penetrasi obat ke dalam kulit. Untuk dapat dihantarkan melalui rute transdermal, senyawa obat harus memiliki beberapa karakteristik diantaranya: Memiliki bobot molekul rendah atau < 600 Da, memiliki kelarutan yang baik pada air dan minyak, memiliki koefisien partisi yang adekuat (logP 1-3), memiliki titik leleh yang rendah (< 200 °F), memiliki waktu paruh yang singkat (< 10 jam), tidak menyebabkan iritasi kulit, memiliki potensi yang tinggi dimana dosis harian rendah (< 20 mg/hari).⁶

Liposom

Liposom merupakan vesikel berukuran mikro atau nano yang mengandung fosfolipid amfifil tersusun dalam bilayer konsentris dalam pembawa air.¹ Liposom konvensional terdiri atas fosfolipid dan kolesterol. Berdasarkan karakteristik fisikokimia dari obat, molekul obat dapat dienkapsulasi pada area berair (senyawa hidrofilik) atau disisipkan pada lipid bilayer (senyawa lipofilik).¹ Berdasarkan jumlah bilayernya, liposom dapat diklasifikasikan menjadi vesikel unilamellar (*Uni Lamellar Vesicle /ULV*) dan multilamellar (*Multi Lamellar Vesicle /MLV*). Berdasarkan ukurannya, maka vesikel unilamellar dapat diklasifikasi menjadi vesikel kecil (*Small Unilamellar Vesicle/ SUV*) dan besar (*Large Unilamellar Vesicle/ LUV*).²

Beberapa sediaan liposom transdermal telah dipasarkan antara lain Aphotec, Ambisome dan Abelcet yang diindikasikan untuk pengobatan anti jamur.³

Kelebihan dan Keterbatasan Liposom

Terdapat beberapa kelebihan dari liposom diantaranya meningkatkan stabilitas obat melalui enkapsulasi; Non-toksik, biokompatibel, *biodegradable* dan tidak memicu reaksi imun; meningkatkan kelarutan obat lipofilik dan amfifilik; memberikan pelepasan terkontrol (*sustained release*); serta meningkatkan penetrasi obat ke jaringan.

Selain kelebihan, terdapat pula keterbatasan dari liposom konvensional diantaranya fosfolipid dapat mengalami reaksi oksidasi dan hidrolisis; kemungkinan terjadinya kebocoran obat yang dienkapsulasi; vesikel yang terbentuk bersifat kaku atau tidak fleksibel; serta sulit mendapatkan fosfolipid natural dengan kemurnian tinggi.

Komponen Penyusun Liposom

Lipid

Lipid memiliki berbagai struktur dengan struktur utama amfifil yakni terdiri dari sisi hidrofilik pada gugus kepala dan hidrofobik pada ekor hidrokarbon. Gugus kepala dapat bermuatan negative, positif maupun *zwitterion*. Gugus kepala juga dapat dikongjugasi dengan molekul lain.⁴

Lipid dibagi menjadi lipid natural dan disintesis secara kimia. Contoh dari lipid natural yang umum digunakan ialah fosfolipid, sphingolipid dan sterol. Lipid sintetis yang umum digunakan ialah fosfatidilkolin, DOPE, DOPG, fosfatidilgliserol.⁴

Kolesterol

Dalam sistem vesikel kolesterol berfungsi membantu pembentukan susunan bilayer dan meningkatkan kekakuan, kekuatan, penahanan dan efisiensi penjerapan. Secara fisik, molekul kolesterol akan memposisikan dirinya bersama-sama dengan surfaktan non-ionik pada membran vesikel.⁵

Transfersome

Transfersome merupakan vesikel yang bersifat fleksibel (*ultra-deformable*) yang terbuat dari fosfolipid dengan surfaktan yang berfungsi sebagai *edge activator* untuk meningkatkan elastisitas dan deformabilitas vesikel.¹ *Edge-activator* yang digunakan berupa surfaktan rantai tunggal yang memiliki radius kelengkungan yang tinggi. *Edge activator* yang umum digunakan berupa Span, Tween, Dipotassium glycyrrhizinate, Sodium cholate, dan Sodium deoxycholate.⁶

Kelebihan dan Keterbatasan Transfersome

Berbagai penelitian telah membandingkan keunggulan Transfersomes dibandingkan dengan liposom konvensional⁷ diantaranya dapat menghantarkan obat dengan rentang kelarutan yang besar; bersifat biokompatibel dan biodegradabel; merupakan pilihan untuk memberikan sistem lepas lambat dan terkontrol. Transfersome efisien dalam menyerap berbagai bahan aktif dalam berbagai ukuran, struktur, berat molekul atau sifat polaritasnya sehingga dapat digunakan untuk penghantaran berbagai jenis senyawa aktif termasuk protein dan peptide, insulin, kortikosteroid, interferon, anastesi, OAINS dan obat antikanker⁸

Transfersome 10⁵ kali lebih *deformable* dibandingkan liposom konvensional. Sifat elastis dan *ultra-deformable* dari transfersome memfasilitasi penetrasi yang lebih cepat melewati lipid intraseluler pada lapisan stratum korneum kulit. Gradien hidrasi pada kulit membantu mendorong permeasi dari transfersome.¹ Ketika digunakan secara transdermal, transfersome akan menekan dan berpenetrasi dibawah pengaruh gradien air melewati lapisan keratin stratum korneum dan terdeposit pada jaringan subkutan untuk selanjutnya melepaskan obat secara terkontrol ke sirkulasi darah.⁶ Jain et al, membuktikan penetrasi (pada kulit tikus) deksametason dalam sediaan transfersome jauh lebih cepat (hampir kinetika orde nol) dibandingkan dengan liposom konvensional.⁹ Dalam satu studi, dinyatakan bahwa insulin dalam vesikel transfersome

yang dioleskan pada tikus memiliki profil distribusi yang sama dengan injeksi subkutan.⁷

Selain kelebihan, terdapat pula keterbatasan yang dihadapi dalam pembuatan maupun penggunaan transfersome diantaranya Transfersome dapat mengalami degradasi oksidatif dan tidak stabil secara kimia. Oksidasi transfersome dapat diturunkan secara signifikan dengan menghilangkan gas oksigen melalui proses *degass* dan digantikan dengan gas inert seperti nitrogen dan argon. Kelemahan lainnya adalah kesulitan mendapatkan fosfolipid natural dengan kemurnian yang tinggi sehingga umumnya digunakan fosfolipid sintesis sebagai alternatif; Formulasi transfersome yang cukup mahal karena adanya eksipien lipid serta peralatan khusus yang diperlukan untuk produksi.⁸

Fitosom

Analog liposom ini merupakan integrasi antara ekstrak dari tanaman atau fitokonstituen larut air (hidrofilik) ke dalam fosfolipid untuk menghasilkan kompleks molekular lipid pada perbandingan molar tertentu. Pembawa lipofilik memiliki bioavailabilitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak herbal biasa karena memiliki kemampuan penetrasi yang baik untuk melewati membran lipid dalam tubuh.⁶ Fosfolipid amfifilik berfungsi sebagai pembawa konstituen aktif dan membantunya melewati membran.¹⁰

Tujuan pembuatan fitosom adalah untuk meningkatkan absorpsi zat aktif, mengingat fitokonstituen atau senyawa bahan alam umumnya tersusun dari banyaknya cincin seperti polifenol dan ukurannya yang terlalu besar untuk dapat diabsorpsi secara difusi pasif. Selain itu juga senyawa-senyawa tersebut memiliki kelarutan dalam lipid yang buruk.¹⁰

Kompleks fito-fosfolipid terbentuk dari interaksi antara konstituen aktif dengan kepala polar dari fosfolipid. Perbedaan antara fitosom dengan liposom ialah pada liposom, bahan aktif terdistribusi pada medium rongga atau pada lapisan membrane bilayer, sedangkan pada fitosom bahan aktif merupakan bagian integral dari membrane, dan molekul distabilkan melalui ikatan hydrogen pada kepala polar dari fosfolipid.¹⁰

Pada pembuatannya fitosom perlu dipertimbangkan rasio stoikiometri antara konstituen aktif dengan fosfolipid. Umumnya digunakan rasio molar dengan rentang 0,5 hingga 2,0. Rasio stoikiometri 1:1 dianggap paling efisien dalam pembentukan kompleks.¹⁰

Kelebihan dari Fitosom

Fitosom merupakan pembawa yang aman dan efektif; memberikan stabilitas yang lebih baik dibandingkan liposom karena fitosom terbentuk dari ikatan antara molekul fosfolipid dengan komponen bioaktif; merupakan kompleks *biodegradable* dan sedikit mengalami permasalahan penyerapan karena fitokonstituen membentuk vesikel bersama dengan fosfolipid; yang diformulasikan dalam bentuk fitosom meningkatkan permeabilitas karena tingginya kecepatan absorpsi dari fitokonstituen hidrofilik; proses pembuatan sederhana.¹¹

Ethosome

Permasalahan yang dihadapi pada sistem liposom konvensional adalah ketidakmampuan sistem untuk menembus lapisan kulit yang lebih dalam. Kemudian ditemukan penggunaan etanol yang dapat meningkatkan penyerapan percutan, yakni sistem ethosome¹². Sistem vesikel ethosome mengandung fosfolipid, etanol (20-50%) dan air. Etanol yang terkandung di dalam vesikel ethosome ini berfungsi meningkatkan fluiditas lipid membran sel sehingga permeabilitas kulit meningkat. Ethosome dapat menembus membran sel dan melepaskan obat ke dalam lapisan kulit.¹³

Etanol merupakan peningkat penetrasi yang akan meningkatkan karakteristik dari vesikel mulai dari ukuran, stabilitas, efisiensi penjerapan, dan peningkatan permeabilitas kulit. Etanol yang digunakan dalam sistem beragam mulai dari 20-50%. Peningkatan konsentrasi etanol akan menurunkan ukuran dari vesikel, tetapi peningkatan etanol di atas kadar optimum akan menyebabkan lapisan bilayer yang mudah bocor dan menurunkan efisiensi penjerapan. Konsentrasi etanol yang tinggi juga dapat mengubah muatan vesikel dari positif menjadi negatif. Etanol akan menyebabkan muatan ethosome menjadi negatif dan akan mencegah agregasi sistem karena adanya gaya elektrostatik sehingga ethosome menjadi lebih stabil.¹⁴

Kelebihan dan Kekurangan Ethosome

Ethosome memiliki beberapa keuntungan dapat meningkatkan permeasi obat melalui kulit dibandingkan liposome konvensional; Vesikel dapat digunakan untuk menghantarkan molekul yang berukuran besar (peptida dan molekul protein); ukuran vesikel yang lebih kecil sehingga terjadi peningkatan bioavailabilitas.¹²

Keunggulan ini telah dibuktikan dalam berbagai penelitian antara lain pada studi penghantaran topikal dan transdermal dari asam ferulat dalam vesikel ethosome yang menunjukkan fluks permeasi obat lebih tinggi secara signifikan dan teramati adanya deposisi obat pada ethosome dibandingkan dengan Transfersomes dan liposom konvensional.¹⁵

Kekurangan ethosome kemungkinan dapat menyebabkan iritasi karena mengandung kadar etanol yang tinggi.¹⁶

Niosome

Niosome merupakan vesikel yang terbuat dari surfaktan non-ionik dan dengan tambahan kolesterol. Surfaktan Non-ionik ini meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas dari senyawa aktif serta meningkatkan penetrasi pada kulit.^{13,17} Niosome akan menjerap senyawa obat yang bersifat hidrofilik dibagian inti dan senyawa obat hidrofobik di antara lapisan hidrofobik. Surfaktan yang merupakan bahan utama dalam niosome merupakan senyawa amfifilik dengan bagian kepala yang bersifat polar dan bagian ekor yang bersifat non-polar.¹⁸

Pemilihan surfaktan yang digunakan berdasarkan nilai *hidrophilic-lipophilic balance* (HLB), *critical packing parameter* (CPP), dan suhu transisi gel-cair (Tc). Nilai HLB menunjukkan kemampuan surfaktan untuk membentuk vesikel, seperti surfaktan dengan HLB 8,6 membentuk niosome dengan efisiensi penjerapan yang tinggi dan surfaktan dengan nilai HLB yang lebih rendah membutuhkan penambahan kolesterol untuk meningkatkan stabilitas. Surfaktan dengan nilai HLB 14-17 tidak cocok untuk pembentukan niosome karena kelarutannya yang tinggi dalam air. CPP merupakan faktor penting dalam penentuan geometri vesikel, tergantung pada volume hidrofobik, panjang gugus non-polar dan luas gugus kepala hidrofobik. Tc surfaktan secara langsung berkorelasi dengan panjang dan derajat kejenuhan rantai alkil surfaktannya. Rantai alkil yang pendek akan menurunkan Tc dan meningkatkan fluiditas serta permeabilitas rantai. Niosome yang dibentuk dengan surfaktan rantai pendek akan memiliki nilai Tc rendah dan menghasilkan pembentukan vesikel yang mudah bocor. Sebaliknya, surfaktan dengan Tc tinggi (span 60) lebih cenderung berada dalam bentuk gel sehingga mengurangi kebocoran.¹⁸ Surfaktan memiliki toksisitas yang rendah dan lebih tidak menyebabkan kerusakan membran kulit dibanding dengan surfaktan ionik.¹⁹

Kolesterol biasanya digunakan untuk tujuan stabilitas karena memberikan kekuatan dan mempengaruhi fluiditas vesikel yang terbentuk

melalui pembentukan ikatan hidrogen dengan hidrofilik kepala polar dari surfaktan. Kolesterol juga memodulasi kohesi dan mekanisme kekuatan serta mengurangi kebocoran obat yang terperangkap di dalam vesikel. Jumlah kolesterol yang dibutuhkan dapat berkisar dari 10-50%, dan dioptimasi berdasarkan sifat fisikokimia surfaktan dan obat yang digunakan.¹⁸

Niosome berdasarkan ukuran terbagi menjadi 3 kategori, yaitu vesikel unilamellar berukuran kecil (SUV) 10-100nm, unilamellar besar (LUV) 10-3000 nm dan multi-lamellar (MLV) yang terdiri atas lebih dari satu bilayer.¹⁷

Kelebihan dan Keterbatasan Niosome

Niosome memiliki beberapa kelebihan antara lain Niosome mengandung senyawa hidrofilik, amfifilik, dan lipofilik sehingga dapat mengakomodasi molekul obat dengan berbagai kelarutan; Vesikel memiliki sifat fleksibel yang dapat divariasikan dengan mengubah komposisi vesikel yang akan mempengaruhi ukuran, lamellaritas, efisiensi penjeratan dan muatan permukaan; Vesikel dapat bertindak sebagai depot, sehingga dapat melepaskan obat secara terkontrol.¹⁶

Surfaktan yang merupakan bahan utama dalam sistem niosome berguna untuk mengatasi permasalahan utama dari oksidasi yang terjadi pada penggunaan fosfolipid pada sistem vesikel lain, sehingga niosome lebih stabil secara kimia dibanding vesikel lainnya dan dapat meningkatkan stabilitas dari sediaan yang dijerap. Surfaktan nonionik ini juga membantu meningkatkan sediaan obat yang memiliki kelarutan rendah dan juga menyebabkan peningkatan bioavailabilitas obat meningkat.¹⁸ Penanganan dan penyimpanan

surfaktan tidak membutuhkan kondisi yang khusus; Memiliki kompatibilitas yang tinggi dengan sistem biologis dan toksisitas yang rendah karena sifat non-ionik.¹⁶

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk membuktikan keunggulan niosome. Manosroi dkk. Menemukan bahwa gel niosome dietilamonium diklofenak menunjukkan peningkatan fluks pada kulit tikus dan peningkatan aktivitas anti-inflamasi dibandingkan dengan produk Emulgel komersial.²⁰

Kekurangan dari sistem niosome adalah metode pembuatan vesikel yang cukup panjang seperti ekstrusi dan sonikasi, memakan waktu dan membutuhkan keahlian dan peralatan khusus untuk pemrosesan.¹⁶

Novasome

Novasomes tersusun atas campuran asam lemak polioksietilen (sebagai monoester), asam lemak bebas dan kolesterol. Diameter novasomes berkisar antara 0,1 hingga 1 mikron. Sistem ini memiliki 2-7 lapisan ganda dan inti amfifil yang besar dengan kapasitas penyerapan zat aktif sebesar 80-85%. Selain itu, muatan permukaan novasom dapat berupa muatan netral, positif atau negatif.²¹

Novasomes dapat menyerap molekul obat hidrofilik dan hidrofobik. Selain itu, dimungkinkan untuk memasukkan obat dalam lapisan ganda sehingga mencegah inkompatibilitas obat dalam sifat muatan permukaan. Sistem ini dapat memberikan sejumlah besar bahan khusus dalam kosmetik Berdasarkan novasomes, berbagai vaksin telah dipatenkan; juga, ada vaksin lain untuk melawan infeksi bakteri dan virus seperti vaksin cacar. Novasomes dapat menyatu dengan virus yang diselimuti dan virus denaturasi segera setelah fusi.²²

Tabel 1. Perbandingan Liposom dan analognya

	Liposome	Transferosome	Fitosome	Ethosome	Niosome
Kandungan utama	fosfolipid amfipatik dan kolesterol	fosfolipid dengan surfaktan	Fosfolipid dan konstituen bahan alam	fosfolipid, etanol	non-ionik surfaktan dan dengan tambahan kolesterol
Pelepasan dan penghantaran obat	vesikel akan menjadi sistem pembawa obat	<ul style="list-style-type: none"> - Formulasi harus dibiarkan mengering untuk menembus ke dalam kulit dan harus ada gradien hidrasi melintasi membran untuk menghasilkan kekuatan untuk mendorong vesikel. - vesikel akan menjadi sistem pembawa obat juga bertindak sebagai peningkat penetrasi, - vesikel yang bersifat bilayer akan memasuki stratum korneum dan akan memodifikasi lamela lipid antar sel dan akan memfasilitasi penetrasi molekul obat bebas 	vesikel akan menjadi sistem pembawa obat	<ul style="list-style-type: none"> - Etanol meningkatkan fluiditas lipid membran sel, sehingga permeabilitas kulit meningkat. - Ethosome dapat menembus membran sel hingga dan melepaskan obat ke dalam lapisan kulit. - Ethosome dapat berpenetrasi dan menghantarkan obat hingga ke jaringan lemak kulit 	<ul style="list-style-type: none"> - Suraktan meningkatkan efek penetrasi dan mengatasi gangguan <i>stratum korneum</i> - Vesikel akan melakukan penetrasi ke lapisan luar kulit/menyatu dengan permukaan jaringan. Kemungkinan vesikel akan memasuki lapisan luar <i>stratum korneum</i> sebelum menyatu dengan membran lipid bilayer
Fleksibilitas/deformabilitas	Kaku dan tidak elastis	10 ⁵ kali lebih deformable dibandingkan liposom tradisional	Kaku dan tidak elastis	<ul style="list-style-type: none"> - Tingkat elastisitas yang tinggi - Etanol yang digunakan dalam vesikel ethosome meningkatkan fluiditas lipid membran sel sehingga permeabilitas kulit meningkat. 	
Stabilitas	Lipid mudah teroksidasi		stabilitas yang lebih baik dibandingkan liposom karena fitosom terbentuk dari ikatan antara molekul fosfolipid dengan komponen bioaktif	-	lebih stabil dibanding vesikel lainnya
Keamanan terhadap kulit	Aman	Tidak merusak kulit dan dapat meningkatkan hidrasi kulit karena kandungan fosfolipid	Aman	Kemungkinan menyebabkan iritasi kulit karena mengandung kadar etanol yang tinggi	Aman
Oklusif	-	Permeasi kulit yang terbatas untuk kondisi oklusif	-	Meningkatkan permeasi kulit pada kondisi oklusif dan non-oklusif	-

Kelebihan Dan Keterbatasan

Tabel 2. Kelebihan dan keterbatasan Liposom dan analognya

	Kelebihan	Keterbatasan
Liposom	<ul style="list-style-type: none"> - Meningkatkan stabilitas obat melalui enkapsulasi - Non-toksik, biokompatibel, biodegradable dan tidak imunogenik - Meningkatkan kelarutan obat lipofilik dan ampifilik - Memberikan pelepasan sustained release - Meningkatkan penetrasi obat ke jaringan. 	<ul style="list-style-type: none"> - Terkadang fosfolipid dapat mengalami reaksi oksidasi dan hidrolisis - Kemungkinan kebocoran obat yang dienkapsulasi - Sulitnya mendapatkan fosfolipid natural dengan kemurnian tinggi
Transfersome	<ul style="list-style-type: none"> - dapat menghantarkan agen terapeutik hidrofilik dan hidrofobik dengan rentang kelarutan yang besar - sifat ultra-deformable dan elastis, dapat melewati konstiksi barrier kulit yang sangat sempit, tanpa kehilangan struktur vesikel yang utuh - sangat fleksibel dan efisien dalam menampung berbagai zat yang hampir tidak bergantung pada ukuran, struktur, berat molekul atau polaritasnya. Dapat digunakan untuk penghantaran berbagai jenis senyawa aktif termasuk protein dan peptide, insulin, kortikosteroid, interferon, anastesi, OAINS, obat antikanker. - Terbuat dari fosfolipid dan <i>edge activator</i> natural yang biokompatibel dan biodegradabel - Dapat memberikan pelepasan obat diperpanjang dan terprediksi. - Dapat meningkatkan fluks transdermal dan meningkatkan spesifisitas situs dari agen bioaktif - Meminimalisir efek samping dan melindungi obat dari degradasi 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfersom dapat mengalami degradasi oksidatif dan tidak stabil secara kimiawi. Oksidasi transfersom dapat diturunkan secara signifikan ketika media cair di <i>degass</i> dan dibersihkan dengan gas inert seperti nitrogen dan argon. - Kesulitan lain ialah mendapatkan fosfolipid natural dengan kemurnian yang tinggi sehingga umumnya digunakan fosfolipid sintesis sebagai alternatif - Formulasi transfersom yang cukup mahal karena adanya eksipien lipid serta peralatan khusus yang diperlukan untuk peningkatan skala produksi
Ethosome	<ul style="list-style-type: none"> - Etanol berfungsi meningkatkan fluiditas lipid membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas kulit dan meningkatkan penyerapan percutan - Etanol meningkatkan karakteristik dari vesikel (ukuran, stabilitas, efisiensi penjeratan, dan peningkatan permeabilitas kulit) - dapat menembus membran sel dan melepaskan obat ke dalam lapisan kulit - Vesikel dapat digunakan untuk menghantarkan molekul yang berukuran besar (peptida dan molekul protein) - Konsentrasi etanol yang tinggi menyebabkan ukuran vesikel yang lebih kecil sehingga terjadi peningkatan bioavailabilitas 	<ul style="list-style-type: none"> - Kemungkinan dapat menyebabkan iritasi karena mengandung kadar etanol yang tinggi
Niosome	<ul style="list-style-type: none"> - dapat mengakomodasi molekul obat dengan berbagai kelarutan. - fleksibilitas dapat divariasikan dengan mengubah komposisi vesikel yang akan mempengaruhi ukuran, lamellaritas, efisiensi penjeratan dan muatan permukaan - Vesikel dapat bertindak sebagai depot, sehingga dapat melepaskan obat secara terkontrol - stabil dan dapat meningkatkan stabilitas dari sediaan yang dijerap - Penanganan dan penyimpanan surfaktan tidak membutuhkan kondisi yang khusus - kompartibilitas yang tinggi dengan sistem biologis dan toksisitas yang rendah karena sifat non-ionik. 	<ul style="list-style-type: none"> - metode pembuatan vesikel yang cukup panjang seperti ekstrusi dan sonikasi, memakan waktu dan membutuhkan keahlian dan peralatan khusus untuk pemrosesan

Metode Pembuatan Vesikel

Hidrasi Lapis Tipis

Merupakan metode yang paling umum digunakan dalam pembuatan liposom dan analognya. Lipid, molekul amfifilik dan edge activator dilarutkan dalam pelarut organik yang mudah menguap seperti kloroform, methanol atau kombinasinya dengan rasio yang sesuai.⁸ Campuran selanjutnya ditransfer ke dalam labu alas bulat dan pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* diatas suhu transisi lipid dan di bawah tekanan vakum hingga terbentuk lapisan film tipis lipid.⁴ Obat lipofilik dapat ditambahkan pada tahap ini.⁸ Waktu yang biasa digunakan adalah 30 menit, 1 jam atau 6 jam.¹⁴

Film tipis kemudian dihidrasi dengan larutan yang mengandung obat hidrofilik yang akan dienkapsulasi. Proses hidrasi dilakukan pada suhu di atas suhu transisi fase gel-liquid (T_c) dari lipid dengan rotasi pada waktu dan suhu tertentu.⁴ Hidrasi juga dapat dilakukan dengan larutan buffer pada pH yang sesuai.⁸

Volume dari larutan aqueous yang digunakan mempengaruhi karakteristik dari liposom yang terbentuk. Semakin besar volume menghasilkan pembentukan vesikel multilamellar (MLV) dan kecepatan hidrasi menentukan efisiensi enkapsulasi. Semakin lambat kecepatan hidrasi, semakin tinggi efisiensi penjerapannya.⁴ Pada proses selanjutnya dapat dibentuk vesikel unilamellar.²³ Pembentukan unilamellar dapat dilakukan dengan proses sonikasi.¹⁸

Ukuran vesikel dapat diperkecil dengan ekstrusi yakni dengan melewati suspensi melalui membran dengan ukuran pori tertentu atau dengan cara ultrasonikasi yakni dengan memanfaatkan frekuensi dari gelombang ultrasonik. Sonikasi lebih disukai untuk volume besar namun dapat menghasilkan ukuran liposom yang kurang seragam dan dapat pula mendegradasi lipid atau obat yang dijerap karena adanya pembentukan panas selama proses.⁴

Reverse-Phase Evaporation

Metode ini menghasilkan campuran LUV dan MLV yang mampu menjerap obat dalam jumlah besar. Metode ini memungkinkan enkapsulasi untuk molekul besar seperti protein dan asam nukleat.⁴ Fosfolipid, *edge activator* dan kolesterol²⁴ ditambahkan dalam labu alas bulat dan dilarutkan dengan pelarut organik. Obat lipofilik dapat diinkorporasikan pada tahap ini. Selanjutnya pelarut diuapkan untuk menghasilkan film lipid yang kemudian dilarutkan kembali dengan pelarut organik.⁸ Fase aqueous selanjutnya ditambahkan pada tahap ini, menghasilkan sistem dua fase. Obat hidrofilik dapat diinkorporasikan pada tahap ini. Sistem kemudian disonikasi hingga membentuk

emulsi w/o. Pelarut organik selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk membentuk gel viskos yang kemudian diencerkan dengan buffer fosfat sehingga terbentuk suspensi⁸ koloid vesikuler dengan adanya agitasi mekanik yang kuat. Metode ini biasanya digunakan untuk memproduksi unilamellar vesikel yang berukuran besar.¹⁴

Injeksi

Lipid dan molekul amfifil dilarutkan dalam pelarut organik kemudian campuran diinjeksikan ke dalam larutan berair dengan pengadukan magnetik.⁸ Proses injeksi dilakukan pada suhu di atas titik didih pelarut sehingga pelarut organik menguap dan vesikel lipid terbentuk.²³ Metode ini umumnya menghasilkan LUV.⁴ Selanjutnya pelarut organik dihilangkan dengan dialysis atau *vacuum evaporator*. Metode ini sesuai untuk pembuatan liposom volume besar namun umumnya menghasilkan indeks polidispersitas yang besar.⁴ Proses sonikasi dapat dilakukan untuk pengecilan ukuran partikel.⁸

Dehidrasi-Rehidrasi

Dehidrasi-rehidrasi digunakan untuk membuat LUV tanpa menggunakan pelarut organik. Liposom dibuat dengan mendispersikan lipid dan molekul amfifilik pada konsentrasi rendah secara langsung pada larutan berair diikuti dengan proses ultrasonikasi. Obat yang akan dienkapsulasi dapat ditambahkan pada larutan berair selanjutnya dicampur dengan vesikel.

Air diuapkan di bawah nitrogen. Proses penguapan air menghasilkan lapisan film yang menjerap molekul obat. Selanjutnya dilakukan hidrasi dan ketika air ditambahkan akan vesikel besar yang mengenkapsulasi molekul obat.⁴

Freeze-thaw

Freeze-thaw cycle merupakan metode yang menghasilkan penjerapan yang baik dan menghasilkan vesikel unilamellar. Pembuatan dapat diawali dengan metode hidrasi lapis tipis. Kemudian suspensi disonikasi kemudian didinginkan pada suhu $-196\text{ }^\circ\text{C}$ dalam nitrogen cair dan dibiarkan pada suhu ruang hingga mencair. Ketika larutan liposom mencair, vesikel berfusi membentuk LUV. Proses pembekuan dan pencairan ini dapat dilakukan berulang hingga 10 kali siklus sampai didapatkan hasil yang diinginkan. Bila diinginkan vesikel dengan ukuran yang lebih kecil, larutan yang didapatkan dapat disonikasi kembali pada suhu ruang. Teknik freeze-thaw tidak optimal ketika digunakan lipid konsentrasi tinggi.⁴

High Pressure Homogenization

Fosfolipid dan edge activator serta obat didispersikan dalam PBS atau air distilasi

mengandung alkohol diikuti dengan pengadukan ultrasonik secara simultan. Hasil campuran dihomogenisasi dengan HPH.⁸

Metode Trans Membran Gradien pH

Metode ini cocok untuk obat yang larut dalam air yang memiliki fungsi amina yang dapat terprotonisasi. Metode ini melibatkan 3 tahapan, yaitu proses persiapan sistem ethosome kosong, pemuatan zat aktif, dan inkubasi. Persiapan ethosome dilakukan dengan salah satu metode yang disebutkan diatas tetapi proses hidrasi menggunakan buffer asam. Tahap kedua melibatkan pemuatan zat aktif ke dalam suspensi ethosom, diikuti dengan pengadukan terus-menerus. Larutan basa ditambahkan untuk membentuk gradien pH. Sistem ethosome kemudian di inkubasi pada suhu tertentu (30-60 °C) untuk memberikan waktu bagi obat yang tidak terionisasi terperangkap di dalam ethosome.¹⁴

Metode Emulsi

Lipid, surfaktan dan kolesterol dilarutkan ke dalam pelarut organik dan kemudian ditambahkan larutan obat untuk membentuk emulsi minyak dalam air. Pelarut organik ini kemudian diuapkan untuk membentuk suspensi niosome dalam medium air.²³

Metode Gelembung (Bubble)

Metode ini hanya terdiri dari satu tahapan dan tidak memerlukan pelarut organik. Surfaktan dan kolesterol ditambahkan ke dalam larutan buffer pada suhu 70°C, dispersi dicampur menggunakan *high shear homogenizer* selama 15 detik dan gas nitrogen dialirkan mengarah ke larutan ini untuk membentuk LUV.²³

Mikrofluidisasi

Metode ini didasarkan pada prinsip jet terendam.²⁴ Metode baru yang dikembangkan untuk menghasilkan unilamellar vesikel yang lebih kecil dengan distribusi ukuran yang sempit. Larutan surfaktan dan obat dipompa melalui wadah di bawah tekanan pada tingkat 100 ml/menit. Larutan kemudian dilewatkan melalui loop pendingin untuk menghilangkan panas yang dihasilkan selama proses mikrofluidisasi untuk membentuk niosome.²³ Metode ini menghasilkan vesikel yang lebih seragam, ukuran yang lebih kecil dan reproduktifitas yang lebih baik.²⁴

Metode Proniosom

Metode ini dilakukan dengan melapisi bahan pembawa yang larut dalam air dengan surfaktan non-ionik, seperti sukrosa stearat, maltodekstrin atau manitol. Lapisan pembawa yang larut air akan dilapisi oleh lapisan tipis surfaktan dan direhidrasi dengan pengadukan dalam air panas untuk membentuk suspensi niosome. Proniosom akan

menghasilkan bubuk kering, yang akan mengatasi permasalahan ketidakstabilan fisik dari niosome seperti agregasi, fusi dan bocor.

Proniosom juga dapat diproduksi menggunakan metode pemisahan fase koaservasi. Campuran surfaktan, kolesterol, obat dan fosfatidilkolin dilarutkan di dalam etanol pada labu. Selanjutnya dipanaskan pada penangas air suhu 70°C. Fase air kemudian ditambahkan dan dipanaskan hingga terbentuk larutan jernih. Campuran didiamkan hingga dingin pada suhu ruang hingga dispersi berubah menjadi gel proniosom.²³

Metode Pembuatan Fitosom

Fitosom dapat dibuat dengan mereaksikan sejumlah stoikiometri dari fosfolipid natural maupun sintetik dengan komponen herbal pada rasio tertentu (3-1:1) dalam pelarut aprotic seperti dioxane atau aseton. Kompleks yang didapatkan kemudian diisolasi dari pelarut melalui berbagai proses seperti pengendapan dalam hexan, *freeze-drying* atau *vacuum drying* pada *evaporator*. Rasio fosfolipid dan fitokonstituen yang paling umum ialah 1:1.¹¹

Evaluasi Sediaan

Proses evaluasi dilakukan untuk menentukan kualitas dari vesikel yang terbentuk dan aplikasinya.

Ukuran partikel, distribusi ukuran partikel

Pengukuran ini dilakukan untuk mengetahui sifat fisik, homogenitas dan stabilitas dari vesikel. Pengukuran ukuran dapat dilakukan dengan beberapa teknik seperti *dynamic light scattering* (DLS), berdasarkan gerak brown acak dari partikel terdispersi dalam medium. DLS dapat digunakan untuk penentuan ukuran partikel dari 0,5-1000 nm. *Size Exclusion Chromatography* (SEC) dapat digunakan untuk penentuan ukuran vesikel dengan cara memisahkan obat yang bebas dari nanovesikel berdasarkan perbedaan ukuran. Penentuan distribusi ukuran partikel dilakukan dengan PDI, dimana PDI $\leq 0,3$ merupakan nilai yang menyatakan dispersi yang homogen.^{18,25}

Muatan permukaan (Zeta Potensial)

Zeta potensial memiliki pengaruh terhadap stabilitas fisik vesikel. Vesikel dengan muatan permukaan, secara fisik stabil karena adanya gaya elektrostatis antara muatan yang berdekatan sehingga mengurangi kemungkinan agregasi vesikel. Vesikel dengan zeta potensial lebih tinggi dari +30 mV atau lebih rendah dari -30 mV diharapkan memiliki stabilitas yang cukup baik¹⁸. Parameter ini menggambarkan profil muatan partikel dan dapat dihitung dari mobilitas elektroforesis partikel dengan *phase analysis light scattering* (PALS).²⁵

Morfologi

Penentuan morfologi dapat dilakukan dengan teknik mikroskopik seperti *transmission electron microscopy* (TEM), *scanning electron microscopy* (SEM), dan *atomic force microscopy*.¹⁸

Efisiensi penyeratan

Merupakan pengujian untuk menentukan persentase obat yang terjerat ke dalam vesikel. Penentuan efisiensi penyeratan dapat dilakukan dengan metode langsung dan metode tidak langsung. Metode langsung dapat dilakukan dengan menggunakan kolom berdasarkan perbedaan ukuran dari vesikel dan obat bebas. Kolom yang dapat digunakan adalah sephadex gel. Vesikel akan keluar dari kolom dan obat bebas akan tertahan di kolom. Metode lain yang dapat digunakan adalah dialisis. Vesikel akan ditempatkan pada membran dengan batas yang ditentukan dan dilakukan ultracentrifugasi untuk memisahkan dari obat bebas. Langkah kedua setelah pemisahan adalah penghancuran vesikel untuk proses kuantifikasi. Penghancuran vesikel dapat dilakukan dengan penambahan pelarut organik seperti etanol atau metanol. Proses kuantifikasi yang dilakukan dapat menggunakan metode spektrofotometri, kromatografi atau metode lain yang sesuai. Persentase efisiensi penyeratan dapat dihitung menggunakan persamaan:

$$\%EE = \frac{\text{Total obat yang terjerat}}{\text{Total awal obat}} \times 100\%$$

Metode lain yang dapat digunakan adalah dengan metode tidak langsung dengan menghitung jumlah obat bebas yang berada di supernatan setelah proses sentrifugasi dihitung.¹⁸

Derajat Deformabilitas

Evaluasi ini dilakukan untuk *transfersome*. Parameter ini penting karena mempengaruhi permease dari *transfersome*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan air murni sebagai standar. Sampel dilewatkan pada berbagai filter yang diketahui ukuran porinya antara 50 hingga 400 nm. Derajat deformabilitas ditentukan dengan rumus:

$$D = J \frac{rv}{rp}$$

Dimana D merupakan derajat deformabilitas, J merupakan jumlah suspensi yang terekstrusi selama 5 menit, rv merupakan ukuran vesikel dan rp merupakan ukuran pori dari membran.⁸

Uji Permeasi In Vitro

Pengujian ini dilakukan untuk menentukan efisiensi transport sistem penghantaran transdermal

serta mengidentifikasi faktor yang meningkatkan fluks obat dan umumnya diekspresikan dalam satuan $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{jam}$. Metode yang digunakan umumnya dengan sel difusi Franz yang terdiri atas kompartemen donor dan reseptor. Sebagai pengganti membran kulit manusia, dapat digunakan model kulit hewan seperti primate, babi, tikus dan lain-lain. Membrane secara horizontal diletakkan pada kompartemen reseptor dimana bagian stratum korneum berada pada bagian atas menghadap kompartemen donor. Kompartemen reseptor diisi dengan larutan PBS yang diaduk menggunakan magnetic bar untuk mensimulasikan sirkulasi darah dan diatur suhunya pada $37 \pm 5^\circ\text{C}$. Sejumlah formula obat diletakkan pada membran di kompartemen donor. Sejumlah volume larutan media reseptor diambil pada interval waktu tertentu secara simultan kemudian dianalisis kandungan obatnya dengan metode HPLC atau spektroskopi.⁸

Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas dapat dilakukan dengan uji dipercepat maupun uji diperpanjang dengan menyimpan sediaan pada kondisi simpan tertentu. Stabilitas sediaan dapat dipantau meliputi struktur dan ukuran partikel dari waktu ke waktu menggunakan *Dynamic Light Scattering* maupun TEM,⁸ indeks polidispersitas, potensial zeta dan efisiensi penyerapan.

Penutup

Agen farmakologis harus melewati banyak hambatan dan kondisi yang dapat mengurangi efektivitasnya dalam tubuh. Zat aktif harus dicerna berulang kali agar efektif di dalam tubuh. Namun, jika tertelan melebihi dosis tertentu, agen terapeutik dapat menjadi racun dan merusak satu atau beberapa organ dalam tubuh. Transdermal muncul sebagai solusi potensial untuk masalah ini, di mana liposom adalah salah satu struktur nanopartikel paling efektif, dan aman yang dikembangkan sejauh ini. Liposom dapat melewati tubuh dan berfungsi seperti penghantar yang dapat mencapai jaringan, organ, atau reseptor tertentu yang diinginkan. Liposom terus dikembangkan baik dari segi formulasi maupun teknologi pembuatannya. Sifat fisikokimia dan komposisi liposom dapat disesuaikan dengan bahan aktif yang digunakan juga target kedalaman pada kulit atau hingga menuju sistem sirkulasi. Meskipun bukan tantangan yang sederhana.

Daftar Pustaka

1. Donnelly RF, Singh TR. Novel delivery systems for transdermal and intradermal drug delivery. John Wiley & Sons, Ltd; 2015.

2. Santos AC, Rodrigues D, Sequeira JAD. Nanotechnological breakthroughs in the development of topical phytocompounds-based formulations. *Int J Pharm.* 2019;572(July):118787. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.118787
3. Bulbake U, Doppalapudi S, Kommineni N, Khan W. Liposomal formulations in clinical use: An updated review development. Published online 2017:1-33. doi:10.3390/pharmaceutics9020012
4. Large DE, Abdelmessih RG, Fink EA, Auguste DT. Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;176:113851. doi:10.1016/j.addr.2021.113851
5. Mustafa AZ. Development of niosome containing roasted coffee residue extract for antiaging preparation. 2015;(December 2015). doi:10.13140/RG.2.1.4314.0889
6. Chacko IA, Ghate VM, Dsouza L, Lewis SA. Lipid vesicles: A versatile drug delivery platform for dermal and transdermal applications. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2020;195(April):111262. doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111262
7. Ashtikar M, Nagarsekar K, Fahr A. Transdermal delivery from liposomal formulations - Evolution of the technology over the last three decades. *J Control Release.* Published online 2016. doi:10.1016/j.jconrel.2016.09.008
8. Opatha SAT, Titapiwatanakun V, Chutoprapat R. Transfersomes: A promising nanoencapsulation technique for transdermal drug delivery. *Pharmaceutics.* 2020;12(9):1-23. doi:10.3390/pharmaceutics12090855
9. Jain S, Pharm M, Jain P. Transfersomes — a novel vesicular carrier for enhanced transdermal delivery: development, characterization, and performance Evaluation. 2003;29(9):1013-1026. doi:10.1081/DDC-120025458
10. Lu M, Qiu Q, Luo X, et al. Phyto-phospholipid complexes (phytosomes): A novel strategy to improve the bioavailability of active constituents. *Asian J Pharm Sci.* 2019;14(3):265-274. doi:10.1016/j.ajps.2018.05.011
11. Gupta M, Chauhan DN, Sharma V, Chauhan NS. Novel drug delivery systems for phytoconstituents. CRC Press, Taylor & Francis Group; 2020.
12. Pandey V, Golhani D, Shukla R. Ethosomes: Versatile vesicular carriers for efficient transdermal delivery of therapeutic agents. *Drug Deliv.* 2015;22(8):988-1002. doi:10.3109/10717544.2014.889777
13. Donnelly RF, Singh TRR. Novel delivery system for transdermal and intradermal drug delivery. John Wiley & Sons, Ltd; 2015.
14. Abdulbaqi IM, Darwis Y, Khan NAK, Assi RA, Khan AA. Ethosomal nanocarriers: The impact of constituents and formulation techniques on ethosomal properties, in vivo studies, and clinical trials. *Int J Nanomedicine.* 2016;11:2279-2304. doi:10.2147/IJN.S105016
15. Chen M, Liu X, Fahr A. Skin delivery of ferulic acid from different vesicular systems. 2010;6(5):577-585. doi:10.1166/jbn.2010.1154
16. Dragicevic N, Maibach HI. Percutaneous penetration enhancers. Springer Heidelberg; 2016. doi:10.1201/9781420009774.ch5
17. Moghassemi S, Hadjizadeh A. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: An illustrated review. *J Control Release.* 2014;185(1):22-36. doi:10.1016/j.jconrel.2014.04.015
18. Thabet Y, Elsabahy M, Eissa NG. Methods for preparation of niosomes: A focus on thin-film hydration method. *Methods.* 2021;(May):1-7. doi:10.1016/j.ymeth.2021.05.004
19. Brown MB, Williams AC. The art and science of dermal formulation development. CRC Press; 2019.
20. Manosroi A, Jantrawut P, Manosroi J. Anti-inflammatory activity of gel containing novel elastic niosomes entrapped with diclofenac diethylammonium. 2008;360:156-163. doi:10.1016/j.ijpharm.2008.04.033
21. Singh A, Malviya R, Sharma PK. Novasome-A breakthrough in pharmaceutical technology a review article. *Adv Biol Res (Rennes).* 2011;5(4):184-189.
22. Kaur M, Upadhyay P. A Review on novasome technology. *Ijppr.Human* 2020;17(4):93-101.
23. Chen S, Hanning S, Falconer J, Locke M, Wen J. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): Fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019;144(May):18-39. doi:10.1016/j.ejpb.2019.08.015
24. Waghmare S, Patil A, Patil P. Novasome: advance in liposome and niosome. *Pharma Innov J.* 2016;5(5):34-38. <http://www.thepharmajournal.com/archives/2016/vol5issue5/PartA/5-3-29-492.pdf>
25. Fan Y, Marioli M, Zhang K. Analytical characterization of liposomes and other lipid nanoparticles for drug delivery. *J Pharm Biomed Anal.* 2021;192:113642. doi:10.1016/j.jpba.2020.113642