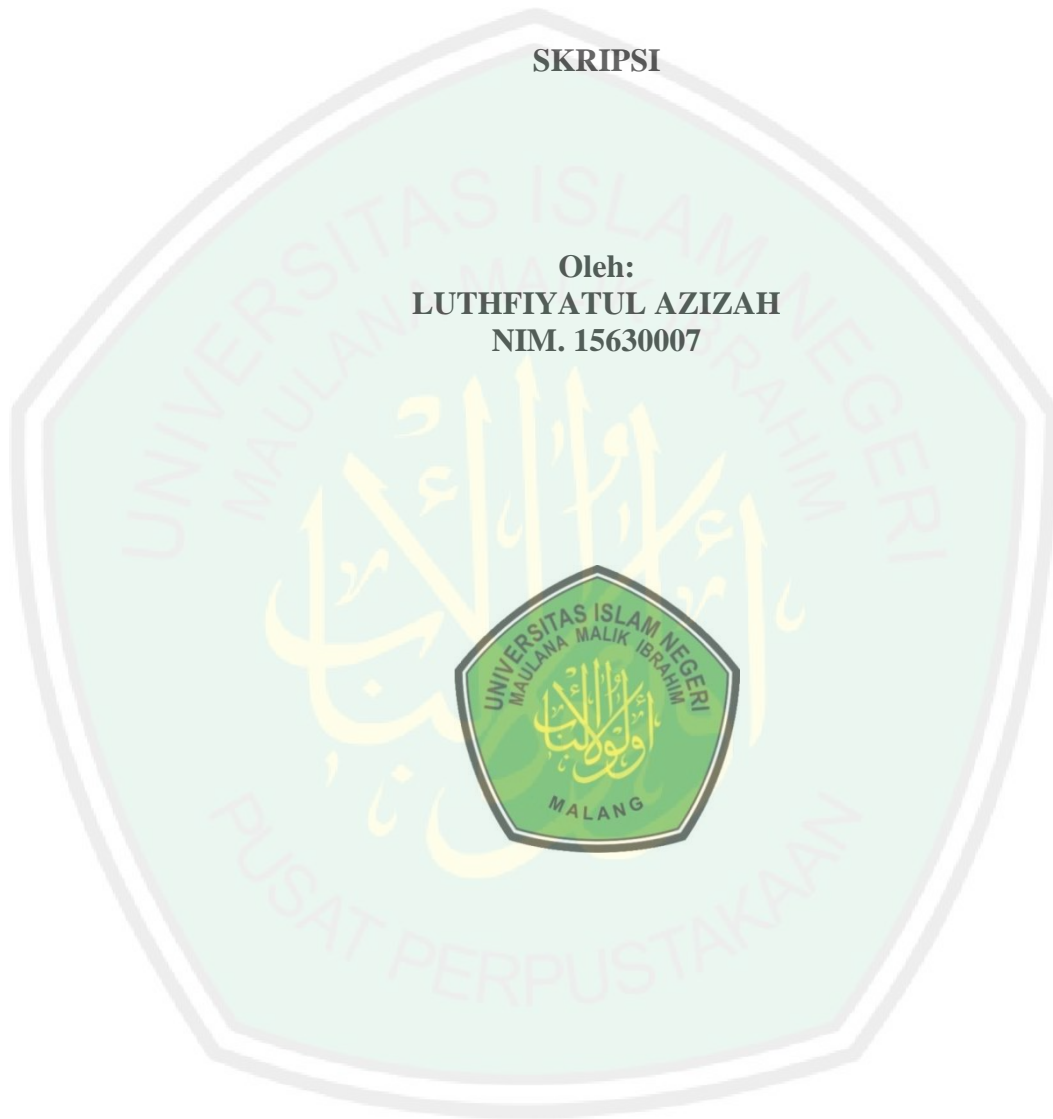


**AKTIVITAS DOXORUBICIN YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT
NAX SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) DENGAN
VARIASI DOXORUBICIN TERHADAP ZEOLIT**

SKRIPSI

Oleh:
LUTHFIYATUL AZIZAH
NIM. 15630007



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**AKTIVITAS DOXORUBICIN YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT
NAX SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) DENGAN
VARIASI DOXORUBICIN TERHADAP ZEOLIT**

SKRIPSI

Oleh:
LUTHFIYATUL AZIZAH
NIM. 15630007

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**AKTIVITAS DOXORUBICIN YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT
NAX SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) DENGAN
VARIASI DOXORUBICIN TERHADAP ZEOLIT**

SKRIPSI

Oleh
LUTHFIYATUL AZIZAH
NIM. 15630007

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 13 Desember 2019

Pembimbing I


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Pembimbing II


Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

Mengetahui,
Ketua Jurusan




Elok Kamilah Hayati M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**AKTIVITAS DOXORUBICIN YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT
NAX SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) DENGAN
VARIASI DOXORUBICIN TERHADAP ZEOLIT**

SKRIPSI

Oleh
LUTHFIYATUL AZIZAH
NIM. 15630007

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 13 Desember 2019

Penguji Utama	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(..... )
Ketua Penguji	: Febi Yusniyanti, S.Si., M.Si LB. 68004	(..... )
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(..... )
Anggota Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	(..... )

Mengetahui,
Ketua Jurusan



Elok Kamilah Hayati M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Luthfiyatul Azizah

NIM : 15630007

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Aktivitas Doxorubicin yang diimbangkan pada Zeolit NaX sebagai Obat Antikanker Payudara (T47D) dengan Variasi Doxorubicin terhadap Zeolit

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 23 Desember 2019

Yang membuat pernyataan,



Luthfiyatul Azizah
NIM. 15630007

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk

Kedua orang tuaku, Bapak Saifulloh dan ibu Siti Romlah
Adikku Abdulloh Fatah

Yang telah memberikan motivasi, dukungan secara materi maupun do'a yang
tiada hentinya

Seluruh bapak ibu dosen jurusan kimia UIN Malang yang telah memberikan do'a
dan ilmunya kepada penulis

Bapak ibu laboran kimia UIN Malang yang membantu dalam proses penelitian.
Bapak ibu pembimbing, staf, teknisi Laboran Parasitologi Univesitas Gadjah
Mada yang telah memberikan banyak ilmu serta mendampingi penulis dalam
penelitian

Serta teman-teman Kimia angkatan 2015 khususnya kelas A yang selalu
memberikan motivasi, dukungan dan do'a dalam menyelesaikan skripsi ini
dengan lancar

Seluruh pihak di belakang penulis yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang
dengan ikhlas memberkan do'a dan motivasi pada penulis

KATA PENGANTAR



Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, atas limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya penulis dapat menyusun skripsi ini dengan maksimal, walaupun masih jauh dari kesempurnaan. Semoga dari apa yang penulis upayakan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Sholawat serta salam akan selalu tercurahlimpahkan kepada junjungan kita Nabi yang Agung, yang merupakan presiden seluruh penjuru dunia, penuntun umatnya hingga akhir zaman yang senantiasa berlandaskan al Qur'an dan as Sunnah, dan suri tauladan terbaik yaitu Nabi Muhammad SAW.

Alhamdulillah, penulis juga bersyukur atas terselesaikannya skripsi yang berjudul **“Aktivitas Doxorubicin yang diembankan pada Zeolit Nax sebagai Obat Antikanker Payudara (T47D) dengan Variasi Doxorubicin terhadap Zeolit”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si). Selama proses penyusunan skripsi ini penulis mendapat banyak bimbingan, nasihat, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq serta hidayah-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan proposal dengan baik.
2. Orang tua penulis yang telah banyak memberikan doa, nasihat, dan dukungan baik moril maupun materil kepada penulis dalam menuntut ilmu.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir.
4. Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si dan Ibu Febi Yusniyanti, S.Si, M.Sc selaku dosen konsultan serta Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing agama, yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir.

5. Seluruh dosen jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.

Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penulis, mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Aamiin.

Dengan menyadari atas terbatasnya ilmu yang penulis miliki. Skripsi ini tentu jauh dari kesempurnaan. Untuk itu penulis dengan senang hari mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua, Aamiin.

Malang, 2 Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
المخلص.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Doxorubicin sebagai Obat Anti Kanker.....	8
2.2 Karakteristik Zeolit NaX	11
2.2.1 Potensi Zeolit Sebagai DDS (<i>Drug Delivery Sistem</i>).....	15
2.3 Metode Impregnasi Doxorubisin terhadap Zeolit.....	16
2.4 Karakterisasi menggunakan FTIR (<i>Fourier Transform Infrared</i>).....	19
2.5 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i> dengan Metode MTT	22
2.6 Sel T47D sebagai Sel Uji Anti Kanker	24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan.....	25
3.2.1 Alat	25
3.2.2 Bahan.....	25
3.3 Rancangan Penelitian.....	26
3.4 Tahapan Penelitian.....	26
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	27
3.5.1 Pengukuran Molekul Doxorubicin	27
3.5.2 Preparasi Sampel	27
3.5.3 Pengembanan Doxorubisin pada Zeolit NaX.....	27
3.5.4 Karakterisasi Hasil Impregnasi Menggunakan FTIR.....	28
3.5.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	28
3.5.5.1 Kultur sel.....	29
3.5.5.1.1 Penyiapan Sel.....	29

3.5.5.1.2 Sub Kultur Sel.....	29
3.5.5.1.3 Perhitungan Sel Kanker	30
3.5.5.1.4 Peletakan Sel pada Plate	30
3.5.5.2 Pembuatan Larutan Uji	31
3.5.5.3 Peletakan Larutan Uji	31
3.5.5.4 Peletakan Larutan MTT	31
3.5.5.5 Analisis Data.....	32
3.5.6 Analisis Laju Pelepasan Obat.....	33
3.5.6.1 Analisis Laju Pelepasan Obat Dox;Zeolit.....	33
3.5.5.2 Analisis Standar Dox	33
BAB IV PEMBAHASAN	
4.1 Analisis Gugus Fungsi Dox yang diembankan pada Zeolit NaX	34
4.2 Uji Aktivitas Antikanker.....	39
4.3 Analisis Laju Pelepasan Dox yang diembankan pada Zeolit NaX	48
4.4 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	50
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Doxorubisin	8
Gambar 2.2 Mekanisme Doxorubicin terhadap Sel	10
Gambar 2.3 Struktur Kimia Zeolit	11
Gambar 2.4 Pembentukan SBU zeolit X dan Y	12
Gambar 2.5 Struktur Kerangka Zeolit Faujasit	14
Gambar 2.6 Difaktogram Zeolit NaY	14
Gambar 2.7 Interaksi zeolit dengan 5-fluorouracil	15
Gambar 2.8 Difaktogram zeolit NaY variasi rasio $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ sebelum dan sesudah dilakukan pengembanan	18
Gambar 2.9 Spektra FTIR a) NaY b) CHC c) CHC@NaY	19
Gambar 2.10 Spektra FTIR Solasodin dan Zeolit Klinoptilolit	20
Gambar 2.11 Spektra FTIR sampel Zeolit NaX dan Ekstrak daun sirsak	21
Gambar 2.12 Spektra FTIR SPIO-PEG-D, Dox, dan SPIO-PEG	22
Gambar 2.13 Reaksi Pembentukan Kristal Formazan dari reagen MTT	23
Gambar 4.1 Sebelum dan sesudah pengembanan	34
Gambar 4.2 Ukuran molekul doxorubicin (DOX)	35
Gambar 4.3 Dugaan interaksi antara zeolit NaX dan DOX	36
Gambar 4.4 Spektra FTIR sampel (a) Zeolit NaX, (b) DOX, (c) Hasil Impregnasi perbandingan 1:10, (d) 2:10, (e) 5:10	37
Gambar 4.5 Kamar dalam Hemacytometer dan keadaan sel didalamnya	41
Gambar 4.6 Morfologi sel T47D <i>treatment</i> (a) Tanpa perlakuan (b) Kontrol sel (c) Doxorubicin (d) Zeolit (e) Kombinasi DOX:zeolit 1:10 (f) 2:10 (g) 5:10	42
Gambar 4.7 Morfologi sel T47D setelah pemberian MTT kombinasi DOX:zeolit (a) 1:10 (b) 2:10 (c) 5:10 (d) DOX (e) zeolit	43
Gambar 4.8 Reaksi reduksi MTT	44
Gambar 4.9 Struktur natrium dodesil sulfat (SDS)	44
Gambar 4.10 Kurva standar Doxorubicin (DOX)	48
Gambar 4.11 Gambar 4.11 Pelepasan DOX dari zeolit NaX selama 24 jam pada kondisi pH 1,2&7,2 perbandingan 5:10	49

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Persentase efisiensi pengembanan	35
Tabel 4.2 Interpretasi spektra FTIR zeolit NaX dan hasil pengembanan	38
Tabel 4.3 Data nilai IC ₅₀ uji aktivitas antikanker.....	46



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tahapan Penelitian	61
Lampiran 2 Diagram Alir.....	62
Lampiran 3 Perhitungan dan Cara Pembuatan Larutan	69
Lampiran 4 Data Hasil Penelitian dan Perhitungan	72
Lampiran 5 Dokumentasi.....	90



ABSTRAK

Azizah, Luthfiyatul. 2019. **Aktivitas Doxorubicin yang diembankan pada Zeolit NaX sebagai Obat Antikanker Payudara (T47D) dengan variasi Doxorubisin terhadap Zeolit.** *Skripsi.* Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M. Si; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc; Konsultan: Susi Nurul Khalifah, M.Sc.

Kata kunci: Doxorubicin, Zeolit, Sel T47D, Metode Impregnasi, Metode MTT

Doxorubicin merupakan antibiotik golongan *anthracycline* yang umum digunakan sebagai obat antikanker payudara (T47D). Doxorubicin memiliki efek samping yang dapat dikurangi dengan cara pengembanan pada Zeolit NaX karena dapat meningkatkan efektivitas obat dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker doxorubicin yang diembankan pada zeolit NaX terhadap sel kanker payudara (T47D).

Pengembanan menggunakan metode impregnasi kering dengan variasi doxorubicin:zeolit NaX yaitu 1:10; 2:10 dan 5:10. Hasil pengembanan dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui perbedaan struktur zeolit NaX sebelum dan sesudah dilakukan pengembanan. Selanjutnya diuji aktivitas antikanker pada sel kanker payudara (T47D) menggunakan metode MTT kemudian diuji pelepasan obat menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil analisis spektrofotometer FTIR sampel menunjukkan bahwa intensitas serapan khas zeolit mengalami penurunan yang mengindikasikan bahwa pengembanan doxorubin terhadap zeolit NaX telah berhasil dilakukan. Berdasarkan hasil uji MTT diperoleh nilai IC_{50} sampel variasi doxorubicin:zeolit NaX 1:10, 2:10, 5:10, doxorubicin dan zeolit NaX berturut-turut yaitu 4,94 $\mu\text{g/mL}$; 4,80 $\mu\text{g/mL}$; 3,34 $\mu\text{g/mL}$; 1,12 $\mu\text{g/mL}$ dan 17,83 $\mu\text{g/mL}$. Hasil IC_{50} semua sampel dalam penelitian ini berpotensi aktif sebagai antikanker dan sampel variasi 5:10 lebih efektif sebagai antikanker payudara (T47D). Hasil analisis UV-Vis menunjukkan bahwa doxorubicin dapat terlepas maksimum dari pori zeolit NaX pada pH 1,2 (lambung) sebanyak 13% sedangkan pada pH 7,2 (darah) sebanyak 10,7%.

ABSTRACT

Azizah, Luthfiyatul. 2019. **Doxorubicin Activity loading on NaX Zeolite as a Drug Breast Anti-Cancer (T47D) with the Variation of Doxorubicin to Zeolite.** *Thesis.* Chemistry Departement, Science and Technology Faculty, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M. Si; Advisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc; Consultant: Susi Nurul Khalifah, M.Sc.

Keywords: Doxorubicin, Zeolite, T47D Cells, Impregnation Method, MTT Method

Doxorubicin is an anthracycline antibiotic which is generally used as a drug breast anti-cancer. Doxorubicin has side effect that can be reduced by combining doxorubicin in zeolit NaX because can increase the drug effectively in killing or obstructing the growth of cancer cells. This research aims to combined doxorubicin in zeolit NaX on breast anti-cancer cells.

The combining used dry impregnation method with variation of doxorubicin: zeolit NaX 1:10, 2:10 and 5:10. The result was characterized by using FTIR to determine the difference zeolite. Furthermore, the activity test of the breast anti-cancer was tested by using the MTT method then the drug release was tested by using UV-Vis spectrophotometer.

The analysis result of FTIR spectrophotometer shows the combining of doxorubicin on zeolite was successfully done. Based on the MTT test result the IC_{50} values of sample variations 1:10; 2:10; 5:10; doxorubicin and zeolite NaX respectively 4.94 $\mu\text{g/mL}$; 4.80 $\mu\text{g/mL}$; 3.34 $\mu\text{g/mL}$; 1.12 $\mu\text{g/mL}$ and 17.83 $\mu\text{g/mL}$. The result of IC_{50} value in this research were potentially active breast anti-cancer and variation sample 5:10 was more effective as breast anti-cancer. The analysis result of UV-Vis spectrophotometer shows the maximum value of doxorubicin could release from zeolite NaX at pH 1.2 (stomach) was 13% and pH 7.2 (blood) is 10,7%.

المخلص

عزيزة ، لطفية . ٢٠١٩. نشاط دوكسوروبيسين الذي يحمل على الزيوليت NaX كدواء مُضادٍ للسرطان النُدِّي (T47D) بمِنوعات دوكسوروبيسين في الزيوليت. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير؛ المشرف الثاني: أحمدحنافي الماجستير؛ المستشارة: سوسي نور الخليفة، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: دوكسوروبيسين ، زيوليت NaX ، طريقة التشريب ، خلايا سرطان الثدي (T47D) ، طريقة MTT

دوكسوروبيسين هو الدواء من جنس انترسيكالين الذي يشيع استخدامه كدواء مضاد للسرطان النُدِّي (T47D). دوكسوروبيسين له تأثير جانبي يمكن تقليله عن طريق الحمل على الزيوليت NaX لأنه يستطيع أن تزيد فعالية الدواء في قتل أو تثبيط خلايا السرطان. كان الهدف من هذا البحث هو معرفة نشاط مضاد للسرطان من دوكسوروبيسين الذي يحمل على الزيوليت NaX ضد خلايا السرطان النُدِّي (T47D).

كان الحمل باستخدام طريقة التشريب الجاف بمِنوعات دوكسوروبيسين؛ الزيوليت NaX و هو ١:١٠؛ ١:٥؛ ١:٢. تميزت نتائج الحمل باستخدام FTIR لمعرفة الاختلافات في بنية الزيوليت NaX قبل الرفع وبعده. وبعد ذلك اختُبر نشاط مضاد للسرطان على خلايا سرطان الثدي (T47D) باستخدام طريقة MTT، ثم اختُبر استرخاء الدواء باستخدام UV-Vis

أظهرت نتائج الإختبار من FTIR أن شدة امتصاص الزيوليت قد تلاقي التخفيض الذي يدل على أن حمل الدوكسوروبيسين على الزيوليت NaX ناجح في عملية. بناءً على نتائج اختبار MTT فيحصل درجة IC_{50} لعينات تباين دوكسوروبيسين: الزيوليت NaX ١:١؛ ١:٢؛ ١:٥؛ ١:١٠، وكان دوكسوروبيسين، الزيوليت NaX على التوالي ٤,٨٠؛ ٤,٩٤؛ ٣,٣٤؛ ١,١٢؛ ١٧,٨٣ ميكروغرام / مل. نتائج IC_{50} لجميع العينات في هذا البحث لديها القدرة على أن تكون فعالة كالمضاد للسرطان و العينة المتنوعة 5:10 أكثر المؤثر كالمضاد للسرطان النُدِّي (T47D). أظهرت نتائج تحليل UV-Vis أن دوكسوروبيسين يمكن إطلاقه كحد أقصى من مسام الزيوليت NaX عند درجة الحموضة ١,٢ (المعدة) بقدر ١٣% بينما في درجة الحموضة ٧,٢ (الدم) بقدر ١٠,٧%.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang timbul akibat pertumbuhan sel-sel yang tidak terkontrol dan tidak normal, yang berpotensi menyerang atau menyebar ke bagian tubuh yang lain. Menurut Ghazi, dkk. (2013) *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2008 melaporkan bahwa kanker dengan jumlah penderita perempuan paling banyak di Asia Tenggara adalah kanker payudara yaitu 22,4%. Berdasarkan data SIRS (Sistem Informasi Rumah Sakit) di Indonesia melaporkan bahwa kasus kanker payudara menempati posisi tertinggi yaitu mencapai 8.227 atau 16,85% (Nisa, dkk., 2016). Data lain menunjukkan angka persentase kanker payudara mencapai 26% dengan 15% dari angka tersebut berakhir dengan kematian (Setiawati, dkk., 2011). Untuk mengurangi angka persentase, maka penyembuhan dan pengobatan secara medis dilakukan dengan radioterapi, operasi dan kemoterapi.

Kemoterapi merupakan salah satu pengobatan yang banyak diterapkan untuk penyakit kanker payudara, yaitu dengan menggunakan agen kemoterapi yang mempunyai efek toksisitas tertinggi seperti *doxorubicin* (DOX). Menurut Tacar, dkk. (2012) mengatakan bahwa lembaga *Food and Drug Administration* untuk pengobatan kemoterapi telah menetapkan DOX sebagai obat kemoterapi yang paling ampuh karena mampu menghambat pertumbuhan sel. Allah SWT menjanjikan kepada makhluknya bahwa semua penyakit pasti ada obatnya, hal ini dijelaskan dalam hadits riwayat imam Bukhari, Rasulullah SAW bersabda

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ، عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.” (HR Bukhari).

Berdasarkan hadits tersebut dijelaskan bahwa salah satu usaha yang dilakukan manusia untuk mencari obat dari penyakit kanker adalah meneliti dan mengeksplorasi senyawa baru yang berpotensi memberi manfaat untuk kemaslahatan umat. Karena Allah SWT telah menjanjikan adanya solusi dari setiap permasalahan, begitu juga dengan penyakit yang pasti ada obatnya. Sehingga kita sebagai muslim dituntut untuk selalu berikhtiar dan melakukan yang terbaik untuk mengkaji adanya pengobatan-pengobatan terbaru hingga ditemukan obat yang sesuai. Hadits lain menyebutkan bahwa Rasulullah SAW bersabda

عَنْ جَابِرٍ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ، عَنِ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ: لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Setiap penyakit ada obatnya, jika obat dari suatu penyakit itu tepat, ia akan sembuh dengan izin Allah SWT” (HR. Muslim).

DOX merupakan obat antibiotik golongan *anthracycline* yang dapat menginduksi imunogen sehingga menyebabkan kematian secara apoptosis pada sel kanker (Ghebeh, dkk., 2010). Selain itu DOX mempunyai efek samping kardiotoxicitas (Omidirad, dkk., 2013). Untuk mengurangi efek samping tersebut, maka teknologi medis yang berkembang yaitu menggunakan *Drug Delivery Sistem* (DDS).

DDS yang umum digunakan saat ini adalah liposom, misel, nanopartikel, *carbon nanotubes* (CNT), *dendrimers*, dan *supermagnetic iron oxide polyethylene*

glycol (SPIO-PEG). Penelitian yang dilakukan Liang, dkk. (2016) menggunakan SPIO-PEG-D sebagai DDS untuk *magnetic resonance imaging* (MRI) hasilnya adalah efektif mengurangi efek samping dari obat. Beberapa penelitian telah mengembangkan material anorganik seperti zeolit sebagai DDS yang dapat digunakan sebagai aplikasi biomedis terbaru (Amorim, dkk., 2012).

Zeolit merupakan mineral kristal alumina silikat berpori terhidrat yang mempunyai struktur kerangka tiga dimensi terbentuk dari tetrahedral SiO_4 dan $[\text{AlO}_4]$. Zeolit dapat digunakan sebagai pengemban atau matriks molekul obat karena berdasarkan Villaca, dkk. (2013) zeolit mempunyai sifat struktural dan stabilitas dalam lingkungan biologis. Zeolit juga dapat digunakan sebagai obat pada terapi kanker karena mampu menghambat poliferasi sel kanker (Ghazi, dkk., 2013). Putra dan Mustika (2016) mengatakan bahwa keuntungan zeolit sebagai DDS yaitu dapat meningkatkan keefektifan obat, mengontrol pelepasan obat, mencegah degradasi obat dan tidak memberikan efek toksik terhadap tubuh bahkan dapat memberikan aktivitas antikanker.

Zeolit yang digunakan sebagai DDS merupakan zeolit NaX, karena berdasarkan penelitian Spanakish, dkk. (2013) menggunakan zeolit NaX sebagai pengemban senyawa antikanker 5-fluorouracil lebih efisien daripada zeolit BEA yaitu dengan perbandingan 16,8% dan 6,02%. Zeolit NaX bersifat hidrofilik sehingga dapat melepaskan obat antikanker 5- fluorouracil lebih cepat daripada zeolit BEA yang bersifat hidrofobik. Penelitian lain dilakukan oleh Ghazi, dkk. (2013) untuk mengetahui efek penghambatan zeolit NaX dan NaY terhadap poliferasi sel kanker Hela yang dibudidayakan dalam 50 mg/mL zeolit dengan

penambahan 5% FBS menunjukkan bahwa zeolit NaX dapat menghambat pertumbuhan sel kanker lebih tinggi yaitu 54,1% daripada zeolit NaY yaitu 7,2%.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Lilbaiq (2017) menggunakan sampel ekstrak etanol daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering dan perbandingan ekstrak:zeolit yaitu 1:10, 5:10 dan 10:10, didapatkan hasil yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) yaitu pada perbandingan 5:10. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC_{50} 67,343 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan ekstrak tunggal daun sirsak (*Annona muricata Linn*) sebesar 83,6 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian lain dilakukan oleh Mukharromah (2019) dengan ekstrak hasil fraksinasi dan isolat senyawa acetogenin dari daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai senyawa antikanker payudara (T47D) menggunakan metode yang sama dan perbandingan 5:10 menghasilkan nilai IC_{50} yaitu 125,683 $\mu\text{g/mL}$ dan 103.514,217 $\mu\text{g/mL}$.

Penelitian yang dilakukan oleh Amorim, dkk. (2012) melaporkan bahwa pengembanan zeolit NaA dengan senyawa CHC pada konsentrasi 0,05 ppm dapat menghambat sel kanker dengan meningkatkan efisiensi obat sebesar 29 dan 146 kali dengan perbandingan CHC:zeolit NaA yaitu 1:10 dan 5:10. Sedangkan hasil pengembanan zeolit NaY dengan senyawa CHC pada konsentrasi 0,05 ppm dapat menghambat sel kanker dengan meningkatkan efisiensi obat sebesar 119 dan 585 kali dengan perbandingan CHC:zeolit NaY yaitu 1:10 dan 5:10. Hal ini karena struktur zeolit NaY yang lebih terbuka dan ukuran pori yang lebih besar (7,4Å) sehingga CHC dapat dengan bebas berdifusi kearah sel. Struktur zeolit NaY sama dengan zeolity NaX yaitu *faujasite*, sehingga keduanya mempunyai aktivitas sama.

Metode awal yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengembanan DOX pada zeolit menggunakan metode impregnasi kering sesuai dengan penelitian Vilaca, dkk. (2013). Kemudian uji toksisitas DOX yang diembankan pada zeolit NaX pada sel kanker payudara (T47D) menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium*). Prinsip dari metode ini adalah menggunakan metode spektroskopi dengan menentukan nilai absorbansi dari formazan.

Metode MTT merupakan metode pengujian secara *in vitro* karena mempunyai keuntungan yaitu senyawa yang digunakan untuk pengujian relatif sedikit, sensitif, akurat, waktu yang dibutuhkan lebih singkat dan dapat memberikan informasi mengenai efeknya secara langsung terhadap sel manusia yang telah dikultur. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara (T47D) karena mempunyai kemampuan replikasi yang tidak terbatas, penanganannya mudah, homogenitas tinggi dan mudah diganti dengan frozen stock jika terjadi kontaminasi (Burdal, dkk., 2003).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas DOX yang diembankan pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering. Hal ini dilakukan agar mengurangi efek samping dalam penggunaan DOX tanpa adanya pengembanan, sehingga diharapkan dapat menghambat aktivitas kanker payudara (T47D) yang efisien.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai obat antikanker payudara (T47D) dengan variasi *doxorubicin* terhadap zeolit.
2. Bagaimana hasil karakterisasi zeolit NaX sebagai pengemban senyawa antikanker payudara (T47D).

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai obat antikanker payudara (T47D) dengan variasi *doxorubicin* terhadap zeolit.
2. Untuk mengetahui hasil karakterisasi zeolit NaX sebagai pengemban senyawa antikanker payudara (T47D).

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

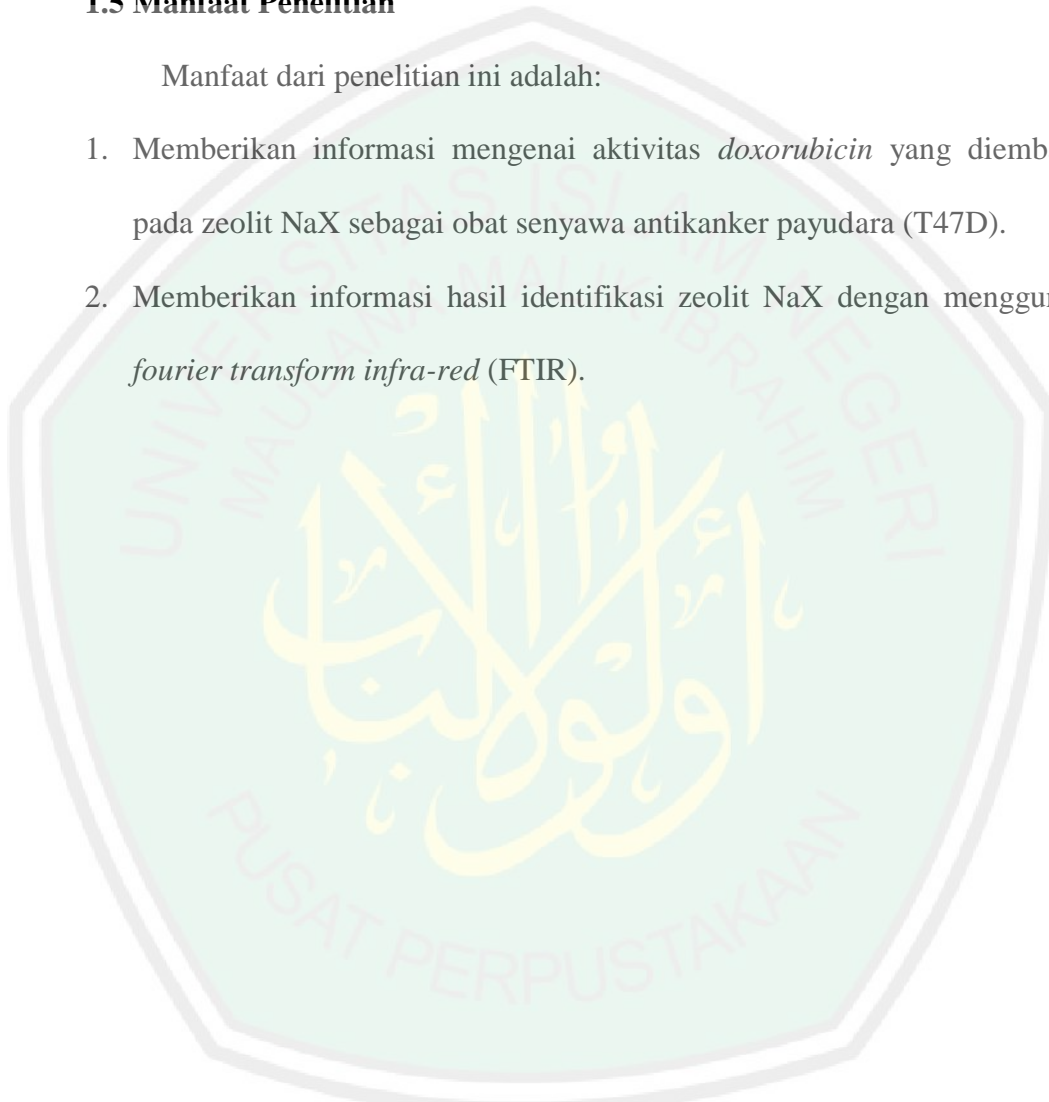
1. Sampel yang digunakan adalah *doxorubicin* sebagai obat antikanker yang dibeli dari apotek Annisa Farma Jl. Joyo Agung No. 2 Merjosari Lowokwaru Malang
2. Menggunakan zeolit NaX sebagai pengemban obat antikanker yang diperoleh dari tim peneliti bidang anorganik kimia UIN Malang.
3. Variasi *doxorubicin* dan zeolit yang digunakan yaitu 1:10 ; 2:10 dan 5:10
4. Metode pengembanan yang digunakan adalah impregnasi kering.
5. Metode *in vitro* yang digunakan metode MTT.
6. Karakterisasi yang digunakan adalah dengan menggunakan *fourier transform infra-red* (FTIR).

7. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara (T47D) dengan media kultur RPMI.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai obat senyawa antikanker payudara (T47D).
2. Memberikan informasi hasil identifikasi zeolit NaX dengan menggunakan *fourier transform infra-red* (FTIR).



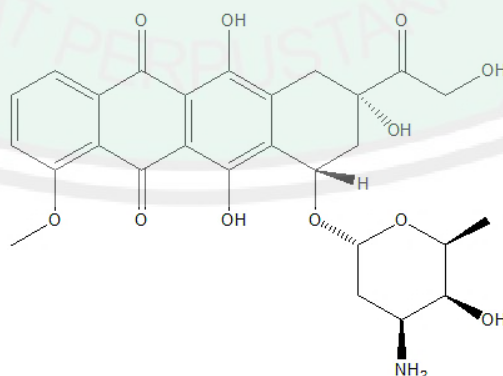


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Doxorubicin sebagai Obat AntiKanker

Doxorubicin (DOX) adalah antibiotik golongan *anthracycline* yang digunakan secara luas untuk pengobatan penyakit kanker. *Anthracycline* di dapatkan dari hasil isolasi kultur *Streptomyces peuceitius*. DOX memiliki gugus aglikon dan sebagian gula. Aglikon terdiri dari struktur cincin tetrasiklik dengan bagian kuinon-hidrokuinon yang berdekatan dan berfungsi sebagai penerima dan pemberi elektron, bagian yang lain yaitu substituent metoksi dan rantai pendek dengan gugus karbonil. Gugus gula atau disebut sebagai daunosamin terikat melalui ikatan glikosida dengan salah satu cincin dan terdiri dari 3-amino-2,3,4-trideoxy-L-fucosyl (Tacar, dkk., 2012). Gugus aktif DOX berupa amino dapat berikatan dengan gugus aktif ester pada senyawa nanopartikel SPIO-PEG (*superparamagnetic iron oxide-polyethylene glycol*) (Liang, dkk., 2016). Rumus molekul DOX yaitu $C_{27}H_{29}NO_{11}$ (Kamba, dkk., 2013), rumus strukturnya yaitu:

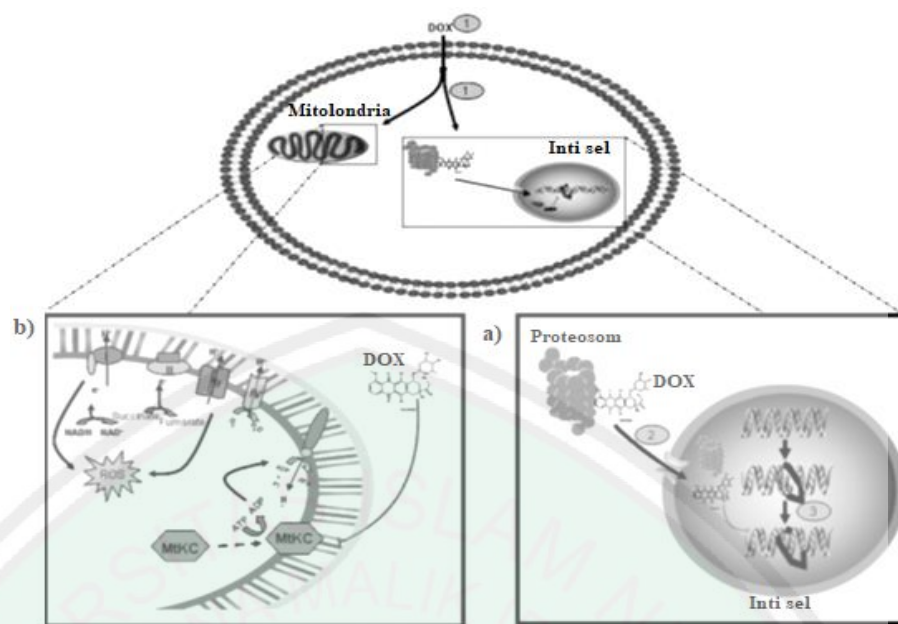


Gambar 2.1 Struktur DOX (Doxorubicin) (Matyszewska, 2014)

Anthracycline berikatan secara interkalasi spesifik dengan asam nukleat DNA doble helix pada bagian planar inti *anthracycline*. Cincin *anthracycline* bersifat lipofil, tetapi ikatan pada cincin terakhir mengandung gugus hidroksil yang terikat pada senyawa gula, sehingga membentuk hidrofil. Molekul bersifat amfoter yang memiliki grup cincin fenol yang bersifat sedikit asam. Struktur fungsi dasarnya adalah pada gula amino yang berikatan dengan membran sel sebagai plasma protein (Carvalho, dkk., 2009).

Berdasarkan Yabbarov, dkk. (2013) DOX menyebabkan kematian sel karena dua mekanisme utama yaitu pertama melalui interkalasi DNA yang mengakibatkan terganggunya replikasi dan transkripsi DNA dan kedua melalui pengikatan dan penghambatan topoisomerase II yang terjadi karena adanya golongan quinon pada struktur doxorubisin. DOX mengalami reaksi redoks yang menghasilkan radikal bebas dan mengakibatkan DNA mengalami kerusakan.

Mekanisme DOX terhadap inti sel kanker terjadi melalui 3 tahap yaitu pertama DOX memasuki sel-sel kanker melalui difusi dan mengikat sel proteasome di sitoplasma, kemudian DOX akan berikatan dengan subunit 20S proteasomal dan membentuk kompleks proteasome-DOX yang bertranslokasi menuju nukleus melalui pori-porinya. Tahap terakhir yaitu DOX mengalami disosiasi dari proteasome dan berikatan dengan DNA (Carvalho, dkk., 2009):



Gambar 2.2 Mekanisme toksisitas *doxorubicin* terhadap a) inti sel kanker melalui 3 tahap, dan b) interaksi DOX dengan mitolondria (Carvalho, dkk., 2009)

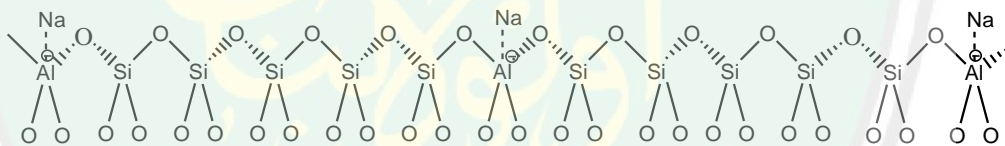
DOX juga mampu berinteraksi dengan mitokondria di sitoplasma dan berikatan dengan kardiolipin yang menghalangi pengikatan mitokondrial kreatine kinase (MtKC) ke membran mitokondria. Peningkatan siklus redox DOX oleh kompleks 1 dari rantai *respiratory* mitokondria menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yaitu NADH, NAD⁺, ADP, ATP dan Pi. ROS ini menyebabkan kerusakan oksidatif pada molekul protein, DNA, lemak membran sel, dan komponen sel atau jaringan lainnya. Hal ini karena ROS hanya memiliki satu atau lebih atom yang tidak berpasangan atau radikal (Carvalho, dkk., 2009)

Molekul obat sangat sulit mencapai tempat target karena jaringan seluler yang kompleks pada suatu organisme, sehingga sistem penghantaran molekul obat berfungsi untuk mengarahkan obat mencapai target yang diinginkan (Winarti, 2013). DOX merupakan obat dengan penurunan kadar terjadi secara cepat pada

level plasma, sehingga pelapisan DOX diperlukan untuk mencegah terjadinya degradasi obat (Hanif dan Lestari, 2018).

2.2 Karakteristik Zeolit NaX

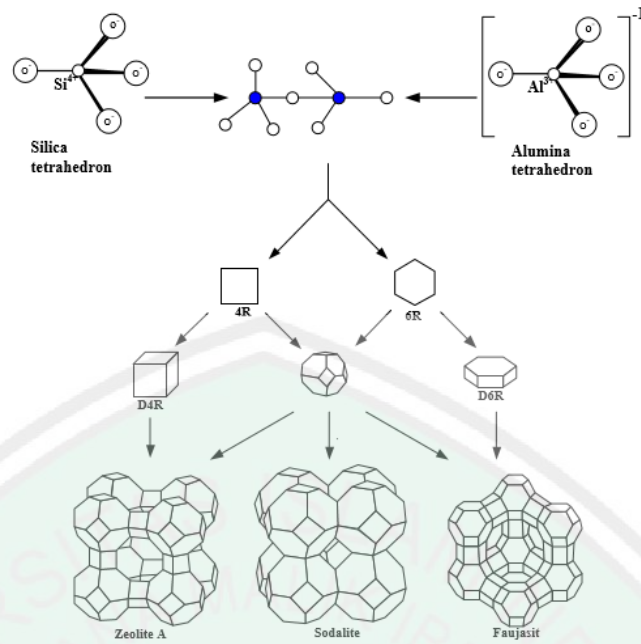
Zeolit didefinisikan sebagai suatu material aluminosilikat yang tersusun atas satuan-satuan tetrahedral SiO_4 dan $[\text{AlO}_4]^-$ yang membentuk kerangka tiga dimensi dengan atom oksigen sebagai penghubung antara atom silikon dan aluminium. Atom silikon yang memiliki muatan +4 dapat digantikan oleh atom aluminium dengan muatan +3 sehingga menghasilkan struktur bermuatan negatif yang berasal dari perbedaan muatan antara tetrahedral SiO_4 dan $[\text{AlO}_4]^-$. Muatan negatif inilah yang menyebabkan zeolit mampu mengikat kation sehingga dapat menjaga struktur agar tetap netral (Rimoli, dkk., 2007). Struktur zeolit ditunjukkan dalam Gambar 2.3 sebagai berikut.



Gambar 2.3 Struktur kimia zeolit (Haag, 1984)

Zeolit mempunyai banyak jenis yang dapat dibedakan berdasarkan komposisi kimia, struktur, sifat kimia, dan sifat fisika yang terkait dengan strukturnya seperti zeolit A, sodalit, dan faujasit yang dapat dilihat pada Gambar

2.4



Gambar 2.4 Pembentukan SBU (*secondary building unit*) zeolit X dan Y (Masoudian, dkk., 2008)

Salah satu dari banyak zeolit yang ada, zeolit faujasit merupakan zeolit yang banyak ditemui. Zeolit faujasit terdiri dari zeolit X (kaya alumina) dan zeolit Y (kaya silika). Zeolit X mempunyai rasio Si/Al sekitar 1,0-1,5 dengan rumus kimia $\text{Na}_{86}[(\text{AlO}_2)_{86}(\text{SiO}_2)_{106}]\cdot 264\text{H}_2\text{O}$ (Thammavong, 2003), sedangkan zeolit faujasit Y merupakan zeolit yang mempunyai rasio Si/Al 1,5-3,0 dengan rumus kimia $\text{Na}_{56}(\text{AlO}_2)_{56}(\text{SiO}_2)_{136}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Hwang dan Chandra, 2008).

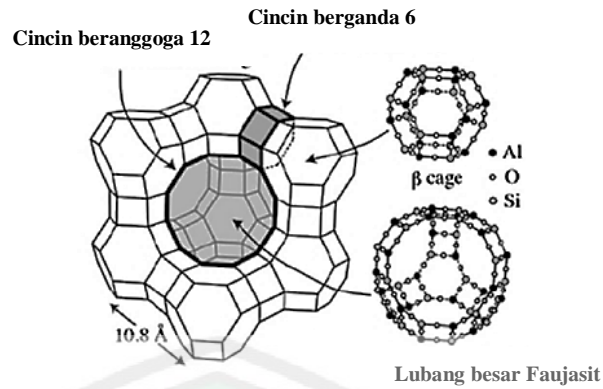
Allah SWT telah menunjukkan berbagai bukti keagungannya di dalam al-quran yakni dengan menciptakan buah-buahan dan gunung-gunung yang memiliki beranekacam warna sebagai bukti adanya perbedaan kandungan didalamnya. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam QS. Fathir ayat 27

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ ثَمَرَاتٍ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهَا وَمِنَ الْجِبَالِ جُدَدٌ بَيضٌ وَحُمْرٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهَا وَعَرَايِبُ سُودٌ {٢٧}

Artinya: “*Tidakkah kamu melihat bahwasanya Allah menurunkan hujan dari langit lalu Kami hasilkan dengan hujan itu buah-buahan yang beraneka macam jenisnya. Dan di antara gunung-gunung itu ada garis-garis putih dan merah yang beraneka macam warnanya dan ada (pula) yang hitam pekat*”(QS. Fathir: 27).

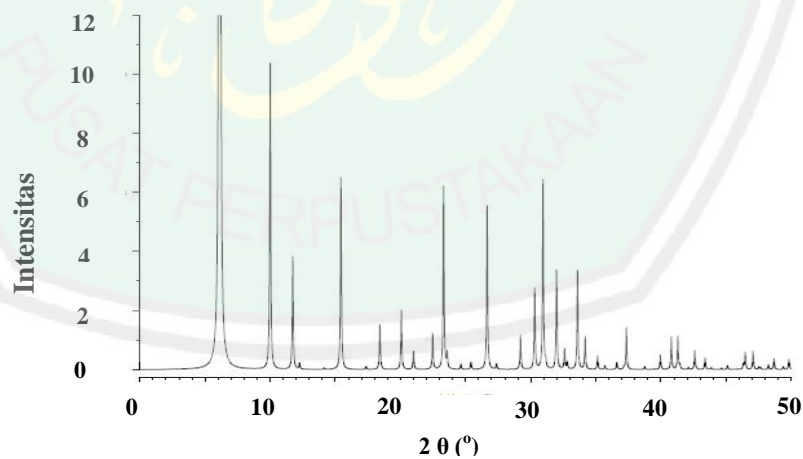
Ayat tersebut menjelaskan tentang bukti-bukti kekuasaan Allah yakni tentang ajakan kepada setiap orang untuk berfikir dan memperhatikan ciptaan Allah yang beraneka ragam. Keanekaragaman itu tidak hanya terjadi pada buah-buahan, namun juga terlihat pada gunung-gunung yang memiliki jalur dan garis-garis yang berwarna putih, merah, dan hitam pekat. Garis-garis tersebut disebabkan oleh adanya kandungan yang berbeda-beda. Warna putih menunjukkan adanya alumino-silika, warna hijau menandakan adanya perunggu sedangkan warna merah menandakan adanya mineral yang didominasi oleh logam besi (Fe) dan untuk warna hitam mengindikasikan adanya batu bara (Shihab, 2002). Demikianlah petunjuk Allah SWT untuk memudahkan umat manusia yakni dengan menggali informasi mengenai kandungan penyusun dari suatu mineral.

Zeolit NaX terdiri dari unit sodalit (β -cage) yang tersusun dari cincin enam dan cincin 4 yang bergabung membentuk oktahedral terpacung, sebanyak 6 buah sodalit dihubungkan oleh cincin berganda 6 sehingga terbentuk tumpukan tetrahedral. Tumpukan ini membentuk lubang besar (*supercage*) yang mempunyai diameter 13Å. *Supercage* dapat terbentuk dari 4 kristal tetrahedral yang tersebar, masing-masing kristal tetrahedral tersebut mempunyai 12 cincin oksigen dan membentuk lubang-lubang (*supercage*) dengan diameter 7,4 Å (Datt, 2012).



Gambar 2.5 Kerangka zeolit x (Johnson dan Arshad, 2014)

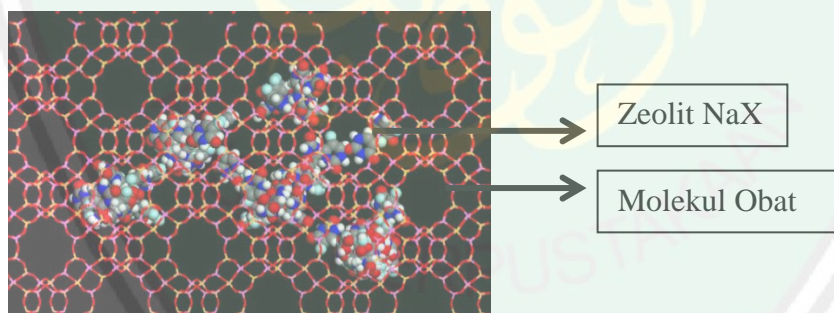
Zeolit NaX yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil sintesis dari kaolin blitar dan memiliki rasio molar Si/Al 5 (Arifah, 2018). Zeolit NaX dengan struktur kristal faujasit memiliki puncak spesifik pada 2θ ketika karakterisasi menggunakan XRD. Puncak spesifik zeolit NaX yang muncul pada $2\theta^\circ$ yaitu 6,1; 10,7; 16; 27; dan 34,08. Difaktogram standar zeolit NaX ditunjukkan pada Gambar 2.6 berikut



Gambar 2.6 Difraktogram XRD pada zeolit X standar (Treacy dan Higgins, 2001)

2.2.1 Potensi Zeolit Sebagai DDS (*Drug Delivery Sistem*)

Zeolit dapat dimanfaatkan dalam aplikasi biomedis seperti *diabetes mellitus*, antikanker, antioksidan dan *drug delivery* (Ghazi, dkk., 2013). Hal ini dipengaruhi oleh zeolit yang mempunyai sifat stabil dalam lingkungan biologis (Amorim, dkk., 2012). Zeolit juga mempunyai struktur dan komposisi pori yang teratur dengan rongga dan saluran (Berlocher, 2007), sehingga dapat digunakan sebagai pengemban/matriks molekul obat. Molekul obat yang berada dalam pori zeolit berdifusi dari dalam ke luar saluran secara perlahan sehingga dapat mengontrol laju pelepasan obat (Vilaca, dkk., 2013). Gugus aktif yang digunakan oleh zeolit yaitu OH yang berikatan hidrogen dengan NH_2 pada senyawa DOX (Divband, dkk., 2018). Berikut merupakan gambaran interaksi yang terjadi antara zeolit dengan molekul obat yang berupa 5-fluorouracil (Spanakish, dkk., 2014) ditunjukkan pada Gambar 2.7



Gambar 2.7 Interaksi Zeolit dengan 5-Fluorouracil (Spanakish, dkk., 2014)

Keuntungan zeolit sebagai DDS adalah dapat meningkatkan kemanjuran obat, menurunkan toksisitas, serta dapat melepas obat dalam jalur terkontrol ke daerah sel kanker (Putra dan Mustika, 2016). Zeolit mempunyai aktivitas imun sehingga dapat digunakan sebagai agen antibakteri pada pengobatan kanker

(Rimoli, dkk., 2007). Zeolit digunakan sebagai DDS (*drug delivery system*) atau pengantar obat karena mempunyai tujuan untuk meningkatkan kontrol dosis obat pada tempat spesifik seperti sel, jaringan, atau organ, sehingga akan mengurangi efek samping yang tidak diinginkan oleh organ non target (Winarti, 2013).

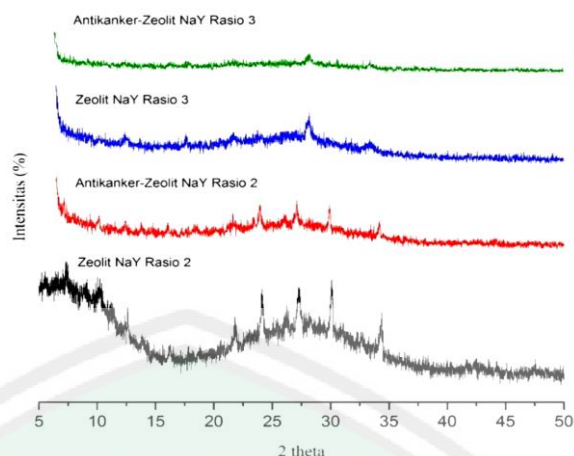
Penelitian yang telah dilakukan oleh Vilaca, dkk. (2011) menggunakan zeolit sebagai pengemban senyawa atau obat CHC (*α -cyano-4-hydroxycinnamic acid*) menunjukkan bahwa penggunaan zeolit sebagai pengemban CHC memberikan efek hambat 110 kali lipat dibandingkan tanpa menggunakan zeolit. Penelitian lanjutan oleh Vilaca, dkk. (2013) melaporkan bahwa penggunaan zeolit sebagai pengemban senyawa atau obat antikanker berupa 5-FU (*fluorouracil*) dapat meningkatkan efisiensi obat. Pada sel HCT-15 efisiensi obat meningkat dari 1,9 ke 7,6 kali lipat sedangkan pada sel RKO efisiensi meningkat dari 1,6 ke 4,3 kali lipat (Vilaca, dkk., 2013).

2.3 Metode Impregnasi Doxorubisin terhadap Zeolit

Impregnasi adalah metode preparasi katalis dengan mengadsorpsikan garam prekursor yang mengandung komponen aktif logam di dalam larutan kepada padatan pengemban. Impregnasi dibedakan menjadi dua yaitu impregnasi basah dan impregnasi kering. Perbedaan keduanya terletak pada perbandingan volume larutan precursor dengan volume pori pengemban. Volume larutan impregnasi kering berkisar 1-1,2 kali volume pori pengemban, karena diharapkan jumlah antara larutan precursor dengan pori yang tersedia pada pengemban adalah sama. Sedangkan volume larutan precursor pada impregnasi basah lebih dari 1,5 kali volume pori pengemban.

Penelitian yang dilakukan Divband, dkk. (2018) untuk mengetahui efisiensi pengembanan DOX terhadap zeolit NaA (3A, 4A, dan 5A) menunjukkan bahwa efisiensi pengembanan DOX @zeolit 4A yaitu 94%, sedangkan zeolit 3A dan 5A berturut-turut yaitu 86% dan 79%. Efisiensi pengembanan dipengaruhi oleh ukuran pori, zeolit NaA mempunyai ukuran pori 0,87 nm yang mana lebih kecil dari ukuran molekul DOX sehingga menyebabkan adsorpsi hanya terjadi di permukaan eksternal. Rimoli, dkk. (2007) melaporkan bahwa senyawa atau obat ketoprofen yang diembankan terhadap zeolit X dan zeolit AX menunjukkan hasil bahwa obat atau senyawa ketoprofen tidak mengubah hasil difaktogram zeolit namun hanya menurunkan kristalinitasnya.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Sudiyono (2016) menggunakan ekstrak etanol akar rumput bambu yang diembankan terhadap zeolit NaY dengan metode impregnasi kering menunjukkan hasil difaktogram zeolit NaY hasil sintesis mengalami penurunan intensitas setelah dilakukan pengembanan, hal ini karena adanya senyawa yang diembankan terhadap zeolit NaY. Penurunan intensitas disebabkan karena sinar yang dipantulkan oleh bidang kristal zeolit terhalang oleh senyawa antikanker yang menempel pada zeolit. Intensitas yang turun ini akan menyebabkan kristalinitas zeolit juga mengalami penurunan. Hasil difaktogram ditunjukkan pada Gambar 2.8



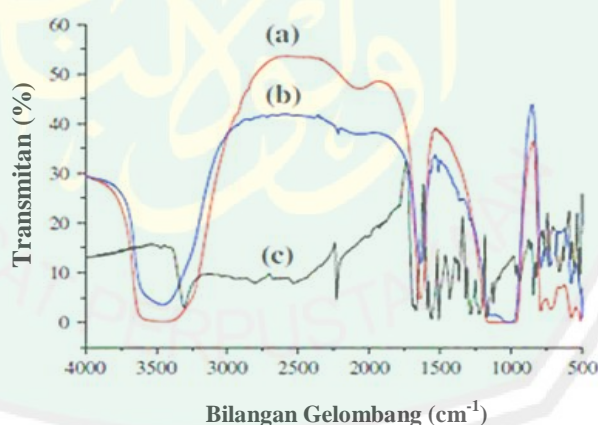
Gambar 2.8 Difaktogram zeolit NaY variasi rasio $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ sebelum dan sesudah dilakukan pengembanan (Sudiyono, 2016).

Putra dan Mustika (2016) melaporkan potensi zat aktif antikanker solasodin yang diimbakan terhadap zeolit klinoptilolit berdasarkan variasi PH pada rentang 3, 5, 7, 9, dan 11 dengan variasi konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm menunjukkan bahwa zat anti kanker solasodin mulai terembankan pada PH 5 dan meningkat maksimum hingga PH 9. Hal ini terjadi karena pada PH 3 (asam) gugus aktif zeolit yaitu silanol dan aluminol terprotonasi sehingga zeolit tidak dapat menyerap solasodin, sedangkan pada PH 5 gugus aktif tersebut mulai berkurang dan menyebabkan terikatnya solasodin pada zeolit. Terikatnya solasodin pada zeolit mencapai maksimum pada PH 9.

Ikatan yang terjadi pada solasodin dan zeolit adalah ikatan hidrogen yang dimungkinkan karena adanya gugus amina dan hidroksil dari solasodin, interaksi yang dimungkinkan adalah interaksi elektrostatik dengan gugus silanol dan aluminol pada zeolit. Sedangkan dengan semakin banyak konsentrasi maka semakin banyak jumlah solasodin yang berhasil diserap oleh zeolit, dalam penelitian ini penyerapan solasodin baru terjadi pada konsentrasi 200 ppm.

2.4 Karakterisasi menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

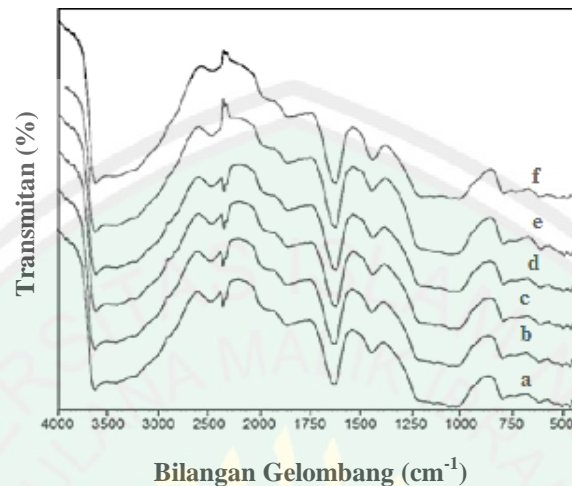
Keberhasilan Impregnasi senyawa terhadap zeolit dapat diketahui dengan menggunakan analisis FTIR. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Vilaca, dkk. (2011) dengan melakukan analisis FTIR terhadap senyawa atau obat CHC (*α -cyano-4-hydroxycinnamic acid*) yang diembankan pada zeolit NaY menunjukkan bahwa terdapat puncak serapan pada panjang gelombang 3450 cm^{-1} yang merupakan vibrasi dari O-H stretching dan O-H bending pada 1640 cm^{-1} . Pada panjang gelombang antara 1300 dan 450 cm^{-1} menunjukkan serapan khas struktur zeolit yang tidak ada perubahan, sedangkan hasil impregnasi CHC terhadap zeolit ditunjukkan pada serapan $2300-2000$ dan $1600-1200\text{ cm}^{-1}$. Data serapan IR menunjukkan bahwa zeolit tidak mempengaruhi serapan senyawa atau obat antikanker. Spektra ditunjukkan pada Gambar 2.9



Gambar 2.9 Spektra FTIR a) NaY b) CHC c) CHC@NaY (Vilaca *et al.*, 2011)

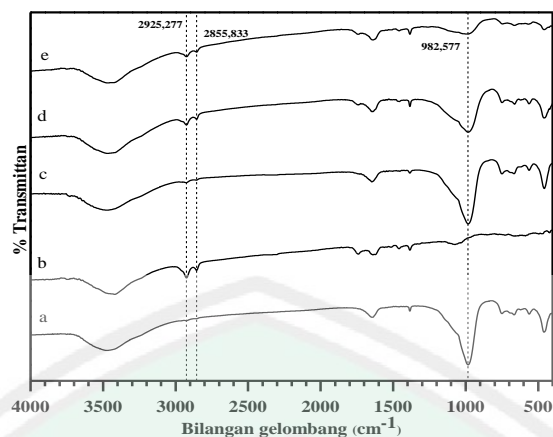
Penelitian lain yang dilakukan oleh Putra dan mustika (2016) menggunakan sampel solasodin (SSD) sebagai zat aktif anti kanker yang di embankan pada zeolit klinoptilolit (CLI) menunjukkan hasil spektra FTIR zeolit

klinoptilolit setelah proses pengembangan dengan variasi konsentrasi solasodin tidak menunjukkan terjadinya perubahan struktur dengan ditandai tidak adanya perubahan pada puncak serapan zeolit. Spektra ditunjukkan pada Gambar 2.10



Gambar 2.10 Spektra FTIR Solasodin dan Zeolit Klinoptilolit dengan a) zeolit klinoptilolit b) SSD/CLI50 c) SSD/CLI100 d) SSD/CLI150 e) SSD/CLI200 f) SSD/CLI250 (Putra dan Mustika, 2016)

Lilbaiq (2017) melaporkan hasil penelitian dengan menggunakan sampel ekstrak etanol daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering menampilkan perbandingan spektra zeolit NaX sebelum dan sesudah pengembangan hasil analisis FTIR pada Gambar 2.11

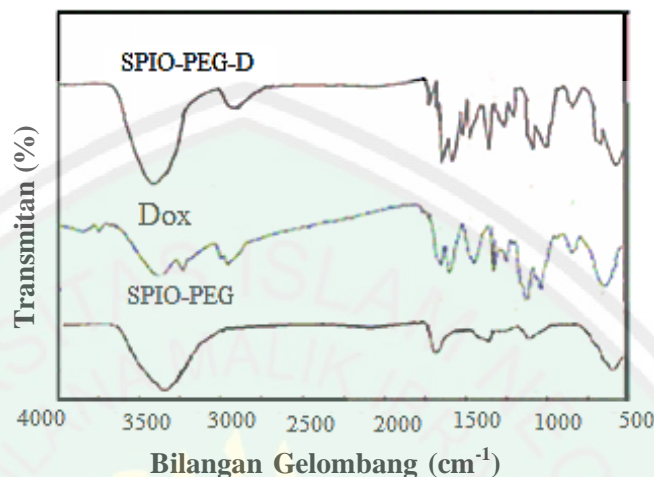


Gambar 2.11 Spektra FTIR pada sampel: a) Zeolit NaX, b) Ekstrak daun sirsak, c) Hasil Impregnasi 1:10; d) Hasil Impregnasi 5:10; e) Hasil Impregnasi 10:10 (Lilbaiq, 2017)

Spektra FTIR pada Gambar 2.9 menunjukkan bahwa terdapat puncak serapan baru pada bilangan gelombang $2925,227\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan serapan gugus $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ (stretch) asimetri pada spektra ekstrak daun sirsak. Spektra tersebut tidak muncul pada spektra zeolit NaX (a). Selanjutnya daerah $2855,833\text{ cm}^{-1}$ juga tidak muncul pada spektra (a) yang menunjukkan serapan $\text{-CH}_2\text{-}$ (stretch) simetri ekstrak daun sirsak.

Pita vibrasi khas zeolit pada bilangan gelombang $982,577\text{ cm}^{-1}$ setelah dilakukan pengembangan (spektra c, d, dan e) mengalami penurunan intensitas puncak, hal ini memperkuat dugaan bahwa spektra khas zeolit semakin menurun, dikarenakan semakin banyaknya ekstrak yang diembankan. Berdasarkan perbedaan pita serapan pada sampel tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak telah teremban ke dalam zeolit NaX.

Penelitian lain dilakukan oleh Liang, dkk. (2016) dengan menampilkan hasil analisis FTIR doxorubisin yang dembankan terhadap SPIO-PEG (*superparamagnetic iron oxide-polyethylene glycol*) pada Gambar 2.12



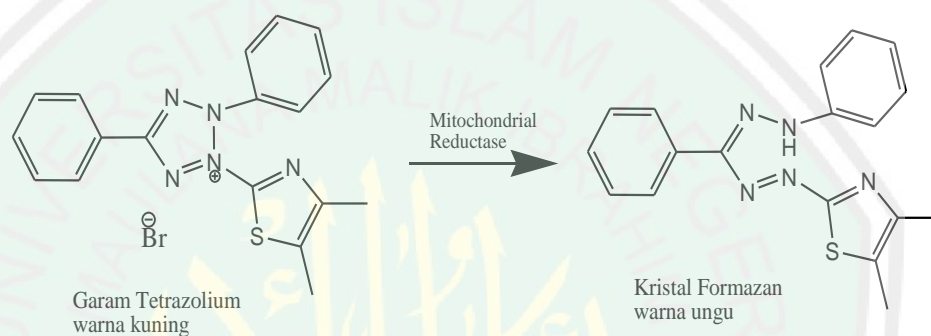
Gambar 2.12 Spektra FTIR SPIO-PEG-D, Dox, dan SPIO-PEG (Liang, dkk., 2016)

Berdasarkan Gambar 2.10 menunjukkan bahwa karakteristik serapan O-H dan C=O dari COOH SPIO-PEG berturut-turut pada panjang gelombang $3,405\text{ cm}^{-1}$ dan $1,652\text{ cm}^{-1}$. Karakteristik serapan N-H dan C-O dari DOX muncul pada $1,553$ dan $1,645\text{ cm}^{-1}$. Serapan lain yaitu NH_2 stretching dari pada $3,427$ dan $3,251\text{ cm}^{-1}$. Untuk karakteristik SPIO-PEG-D muncul pada puncak serapan C=O $1,692\text{ cm}^{-1}$, C-N stretching dari gugus amida $1,403\text{ cm}^{-1}$ dan $3,430\text{ cm}^{-1}$ untuk N-H stretching dari gugus amida. Hasil ini menunjukkan bahwa terjadi pembentukan ikatan amida antara gugus karboksil dari SPIO-PEG dan gugus amino dari DOX.

2.5 Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro* dengan Metode MTT

Metode MTT dilakukan untuk membuktikan adanya efek sitotoksik terhadap sel kanker dengan mengetahui aktivitas biologi secara langsung dari

senyawa kompleks, selain itu metode MTT memiliki beberapa kelebihan seperti relatif murah, mudah dilakukan, hanya membutuhkan peralatan sederhana dan interpretasi hasilnya relatif mudah dan akurat (Istiqomah dan Hayati, 2015). Prinsip dari metode ini adalah reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh enzim reduktase, suksinat tetrazolium yang masuk ke dalam rantai respirasi pada mitokondria sel-sel yang hidup dan membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air (Arifianti, dkk., 2014).



Gambar 2.13 Reaksi Pembentukan Kristal Formazan (ungu) dari reagen MTT (Ambasari, 2018)

Untuk mendeteksi adanya poliferasi sel, digunakan metode perubahan warna. Sel yang mengalami poliferasi akan menyerap garam tetrazolium MTT sehingga sel-sel tersebut berwarna ungu dan mengakibatkan terbentuknya kristal tetrazolium (formazan) (Rahmawati, 2013). Konsentrasi formazan yang berwarna biru keunguan dapat ditentukan secara spektrofotometri visible dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosman, 1983). Absorbansi larutan berwarna ini selanjutnya diukur menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) reader* pada panjang gelombang 500 dan 600 nm, semakin tinggi absorbansi menunjukkan semakin banyak sel yang hidup.

Uji sitotoksik MTT ini digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin toksik. Penelitian yang telah dilakukan oleh A, Setiawati (2011) untuk mengetahui efek sitotoksik DOX oleh hesperidin terhadap sel T47D menggunakan metode MTT menunjukkan hasil nilai IC_{50} 15 nm yang berarti sel T47D mempunyai sifat sensitif relatif tinggi terhadap DOX.

2.6 Sel T47D sebagai Sel Uji Anti Kanker

Sel T47D adalah sel kanker payudara yang didapatkan dari jaringan payudara seorang wanita, merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun (CCRC, 2009). Sel kanker payudara T47D sering digunakan digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, mempunyai kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall, dkk., 2003).

Penelitian yang dilakukan oleh Aka dan Lin (2012) dengan membandingkan profil proteomik sel T47D dan MCF7 menggunakan dua dimensi gel dan analisis spektrometri massa menunjukkan bahwa protein yang terlibat dalam stimulasi pertumbuhan sel, mekanisme anti-apoptosis dan karsinogenesis lebih kuat sel T47D daripada sel MCF7. A, Setiawati (2011) melaporkan bahwa sensitivitas sel T47D terhadap DOX relatif lebih tinggi daripada sel MCF7 dengan nilai IC_{50} 15 nM untuk sel T47D dan 467 nM untuk sel MCF7.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Agustus 2019 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Malang dan Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, *magnetic stirrer*, tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, mikropipet 200 dan 1000 μL , *96-well plate*, *conical tube*, *ELISA reader*, *vortex*, *yellow tip*, *blue tip*, *culture dish*, *hemocytometer*, mortal agate, alat pengepres, dan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Doxorubicin HCL 50 mg/25 mL, zeolit NaX hasil sintesis yang dilakukan oleh Aifah (2018), Sel kanker payudara T47D, PBS (*fosfat buffer salin*), tripsin-EDTA, DMSO, media kultur RPMI, MTT 5 mg/mL PBS (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10% dalam 0,1 N HCl (sebagai larutan *stopper*), aluminium foil, dan padatan KBr.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental di laboratorium berupa obat doxorubicin yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai antikanker sel payudara (T47D). Tahap awal yang dilakukan yaitu zeolit diaktivasi, kemudian doxorubicin diimbangkan pada zeolit menggunakan metode impregnasi kering dengan variasi perbandingan doxorubicin dan zeolit NaX 1:10, 2:10, dan 5:10. Campuran di stirer selama 48 jam. Setelah homogen, sampel diletakkan dalam oven untuk menghilangkan pelarutnya. Hasil pengembanan selanjutnya di uji aktivitas anti kanker terhadap sel payudara (T47D) menggunakan metode MTT secara *in vitro*. Tiap sampel yaitu doxorubicin dan zeolit sebelum diimpregnasi dan setelah di impregnasi dianalisis menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*). Selanjutnya di uji pelepasan obat dengan UV-Vis.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan pelaksanaan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Preparasi zeolit
- 2) Pengembanan doxorubicin terhadap zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering
- 3) Karakterisasi hasil impregnasi menggunakan FTIR
- 4) Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT
- 5) Uji Pelepasan obat menggunakan UV-Vis
- 6) Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pengukuran Molekul Doxorubicin Menggunakan Aplikasi Hyperchem

Buka aplikasi ChemDraw 3D untuk menggambar struktur molekul doxorubicin terlebih dahulu kemudian klik menu *toolbar* yang tersedia dalam kotak seperti *main tools*, *general toolbar*, dan *style toolbar* dengan menyesuaikan bentuk struktur molekul yang akan digambar. Gambar struktur molekul kemudian dipindah ke bentuk 3D dan disimpan dalam format *.pdb.

Pengukuran molekul doxorubicin selanjutnya menggunakan aplikasi Hyperchem dengan memilih file pada menu bar, pilih open untuk memilih molekul dalam format *.pdb yang telah tersimpan sebelumnya. Klik *select* pada menu *toolbar*, kemudian klik atom pertama dan kedua yang ingin diketahui jaraknya. Jarak atau ukuran dari atom yang telah dipilih akan muncul pada pojok kiri bawah dengan satuan Angstrom (Å).

3.5.2 Preparasi sampel

Preparasi dilakukan dengan mengaktivasi zeolit dalam oven suhu 120°C dan dibiarkan selama 3-4 jam.

3.5.3 Pengembanan Doxorubisin pada Zeolit NaX

Pengembanan obat doxorubicin pada zeolit NaX dilakukan menggunakan metode impregnasi kering sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Vilaca, dkk. (2013). Doxorubicin yang akan diembankan terhadap zeolit NaX dengan variasi perbandingan sebagai berikut:

1. Doxorubicin 4 mg : zeolit 40 mg (1:10)
2. Doxorubicin 8 mg : zeolit 40 mg (2:10)

3. Doxorubicin 20 mg : zeolit 40 mg (5:10)
4. Kontrol doxorubicin 5 mg
5. Kontrol zeolit NaX 10 mg

Masing-masing campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang selama 48 jam. Hasil pegembangan selanjutnya dioven dengan suhu 100°C selama 2 jam untuk menguapkan pelarutnya, selanjutnya dilakukan uji aktivitas terhadap sel kanker payudara T47D dengan metode MTT (*in vitro*) dan di analisis menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*). Efisiensi pengembangan doxorubicin terhadap zeolit NaX dapat dihitung menggunakan persamaan 3.1

$$\% \text{ Efisiensi} = \frac{\text{Dox in zeolit-free dox}}{\text{Dox in zeolit}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

3.5.4 Karakterisasi Hasil Impregnasi Menggunakan FTIR

Karakterisasi menggunakan FTIR dilakukan terhadap zeolit NaX, doxorubicin dan hasil impregnasi. Pertama-tama cuplikan dicampurkan dengan padatan KBr kemudian dihaluskan dengan mortar batu *agate* lalu ditempatkan dalam kaca preparat dan dipress agar membentuk pellet. Selanjutnya sampel diletakkan pada *sample holder* dan dianalisis menggunakan FTIR pada bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹.

3.5.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

Uji aktivitas antikanker menggunakan metode MTT dilakukan melalui 4 tahap utama yaitu (CCRC, 2009):

3.5.5.1 Kultur sel

3.5.5.1.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T-47D yang digunakan merupakan koleksi *Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC)* dari Universitas Gadjah Mada. Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80°C), dihangatkan dalam *incubator* menggunakan suhu 37°C selama 2 sampai 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 mL medium komplet (MK), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan sel kanker (pellet) dengan medium (supernatan). Pelet yang terbentuk ditambahkan 4 mL MK, kemudian dimasukkan ke dalam *culture dish*. Selanjutnya diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{CO}_2$, lalu sel di amati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* atau membentuk lapisan monolayer. Bila jumlah sel dalam *culture dish* mencapai 70-85% dilakukan sub kultur sel (panen sel).

3.5.5.1.2 Sub Kultur Sel

Medium yang terdapat dalam *culture dish* dibuang terlebih dahulu, kemudian ditambahkan ± 5 mL PBS (*Phosphate Buffared Saline*) dan dihomogenkan untuk mencuci sel-sel mati kemudian dibuang. Selanjutnya ditambahkan $\pm 300-500$ μL trypsin-EDTA secara merata agar sel dan ikatan antar sel lepas, diinkubasi selama 5 menit pada suhu $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{CO}_2$. Langkah selanjutnya diamati sel di bawah mikroskop, jika terdapat sel yang menempel pada *culture dish*, maka waktu inkubasi ditambah (maksimal jumlah total 10 menit). Jika sel lepas dari *culture dish*, maka ditambahkan 5 mL MK untuk

menginaktifkan sel (menghentikan kerja tripsin) dihomogenisasi dengan menggunakan mikropipet dan 10 μL dimasukkan *Hemacytometer* untuk dihitung jumlah selnya, sedangkan untuk sisa selnya dimasukkan dalam *conical tube* dengan kondisi terbaru dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ / 5% CO_2 .

3.5.5.1.3 Perhitungan Sel Kanker

Diambil 10 μL panen sel, dimasukkan ke *hemacytometer*, kemudian dihitung sel dibawah mikroskop inverted. Jumlah sel kanker yang ada dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\Sigma \text{ sel panen} = \frac{\Sigma \text{ sel kamar } a+b+c+d}{4} \times 10^4 \dots\dots\dots(3.3)$$

3.5.5.1.4 Peletakan Sel pada Plate

Peletakan sel pada *plate* harus diketahui berapa jumlah panen sel yang dibutuhkan, caranya adalah menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\Sigma \text{ sel yang dibutuhkan (mL)} = \frac{\Sigma \text{ well} \times \Sigma \text{ sel yang digunakan}}{\Sigma \text{ sel panen}} \dots\dots\dots(3.4)$$

Diambil jumlah sel kanker yang dibutuhkan, dimasukkan dalam *conical tube* baru dan ditambahkan medium MK hingga total volume 10 mL. Dihomogenkan menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam plat uji, untuk masing-masing sumuran 100 μL , kecuali sumuran yang berada di baris terakhir yaitu di 12 kolom yang digunakan sebagai control sel (medium+sel), control medium (200 μL), dan control obat. Selanjutnya sel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ / 5% CO_2 .

3.5.5.2 Pembuatan Larutan Uji

Sampel ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 300 μL DMSO (*dimethyl sulfoxide*), kemudian campuran dihomogenkan menggunakan vortex sampai larut sehingga didapatkan larutan stok dengan konsentrasi 800 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (ppm). Dibuat larutan sampel dari larutan stok dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 dan 1,5625 $\mu\text{g}/\text{mL}$

3.5.5.3 Peletakan Larutan Uji

Diambil plat uji berisi sel yang telah diinkubasi selama 24 jam, kemudian dibuang media sel dengan cara membalikkan *plat* uji 180° diatas buangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa cairan. Setelah itu sel uji dibagi menjadi 4 bagian menggunakan spidol di atas penutup *plate*. Kemudian dimasukkan sampel sebanyak 100 μL ke dalam semua sumuran pada masing-masing konsentrasi. Selanjutnya dilakukan triplo (pengulangan sebanyak 3x) dan plat diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator 37 °C/ 5% CO₂. Amati dan catat perubahan yang terjadi pada sel selama inkubasi.

3.5.5.4 Peletakan Larutan MTT (Reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide)

Media sel dibuang dengan cara *plate* dibalik dan dicuci menggunakan PBS 100 μL pada tiap sumuran. Kemudian dibuang PBS dengan cara dibalik dan tiriskan sisa cairan dengan tissue. Setelah itu diambil larutan MTT sebanyak 100 μL , lalu diencerkan dengan medium komplet hingga 10 mL. Kemudian dimasukkan larutan ke dalam tiap sumuran sebanyak 100 μL , diinkubasi pada suhu 37 °C/ 5% CO₂ selama 3-4 jam sampai terbentuk endapan ungu kristal

formazan. Selanjutnya ditambahkan μL SDS 10 % 0,01 N HCL pada tiap sumuran untuk melarutkan kristal formazan dan dibungkus *plate* dengan kertas atau *aluminium foil* lalu diinkubasi pada suhu 37 °C/ 5% CO₂ selama 24 jam, kemudian diukur serapannya menggunakan ELISA *reader* pada λ 595 nm.

3.5.5.5 Analisis Data

Data absorbansi yang didapatkan dari pengukuran ELISA *reader* digunakan untuk mengetahui nilai IC₅₀ atau menentukan prosentase sel hidup (viabilitas) pada masing-masing sumuran. Persamaan yang digunakan yaitu :

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\text{Absorbansi sel uji} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\% \dots (3.5)$$

Data prosentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai IC₅₀ menggunakan SPSS melalui analisa *regression* probit dengan kepercayaan 95% untuk masing-masing konsentrasi. Penggunaan data absorbansi yang didapatkan dari hasil pengukuran, selanjutnya digunakan untuk menentukan prosentase sel hidup melalui persamaan 3.5. Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel yang merupakan hubungan antara konsentrasi, prosentase sel hidup dan nilai maksimum sebesar 100. Selanjutnya dianalisis melalui *regression* probit dan data IC₅₀ terletak linear dengan nilai 0,5.

3.5.6 Analisis Laju Pelepasan Obat

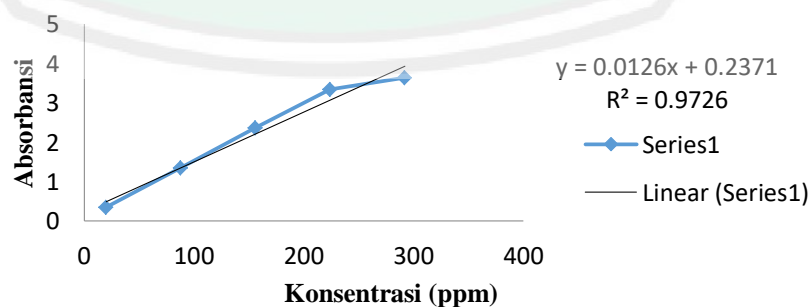
3.5.6.1 Analisis Laju Pelepasan Obat Dox;Zeolit

Analisis laju pelepasan obat dilakukan dengan ditimbang 0,01 g sampel hasil impregnasi doxorubisin terhadap zeolit, kemudian dilarutkan dalam 5 mL HCl 0,1 N hingga pH 1,2 (lambung) dan 7,2 (darah). Distirer pada kecepatan 100 rpm pada suhu ruang hingga sampel larut, dan dilanjutkan dengan karakterisasi menggunakan spektro UV pada panjang gelombang 481 nm selama 24 jam dengan interval 0.08; 0.25; 0.50; 0.75; 1; 2; 3; 6; 9; 12; 15; 18; 21 dan 24 jam (Cabeza, dkk., 2015). Laju pelepasan obat dapat dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut (Divband, dkk., 2018):

$$\text{Drug release (\%)} = \frac{\text{DOX released at spesified time}}{\text{DOX loaded}} \dots\dots\dots(3.2)$$

3.5.5.2 Analisis Standar Dox

Selanjutnya diambil 0,05 mL; 0,2 mL; 0,35 mL; 0,5 mL; dan 0,65 mL campuran doxorubicin;HCl dan di larutkan dengan aquades hingga volume menjadi 5 mL. Campuran di stirer pada kecepatan 100 rpm pada suhu ruang hingga sampel larut dan homogen kemudian dianalisis menggunakan spektro UV pada panjang gelombang 481 nm.



Grafik 3.1 Kurva standar analisis pelepasan DOX

BAB IV

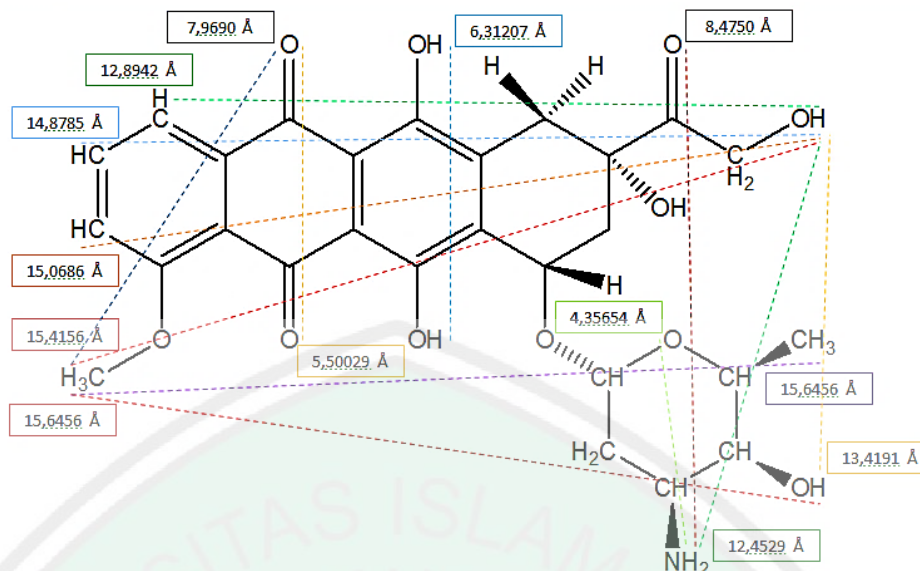
PEMBAHASAN

4.1 Analisis Gugus Fungsi Doxorubicin yang diimbangkan pada Zeolit NaX

Pengembanan doxorubicin (DOX) terhadap zeolit NaX dilakukan menggunakan metode impregnasi kering dengan variasi DOX: zeolit NaX yaitu 1:10, 2:10, dan 5:10. Secara kualitatif keberhasilan pengembanan ditandai dengan perubahan warna seperti pada Gambar 4.1, sedangkan untuk mengetahui DOX yang diimbangkan pada zeolit NaX berada pada permukaan atau pori-pori zeolit NaX secara teori dilakukan pengukuran molekul DOX menggunakan aplikasi *HyperChem*. Hasil pengukuran molekul DOX diperoleh rata-rata adalah 13 Å - 15 Å dan ukuran zeolit NaX meliputi pori dan *supercage* yaitu 7,4 Å dan 13 Å maka molekul senyawa DOX dimungkinkan dapat berinteraksi dengan menempel di permukaan pori zeolit NaX. Hasil pengukuran ditampilkan pada Gambar 4.2



Gambar 4.1 a) Sebelum pengembanan b) Setelah pengembanan



Gambar 4.2 Ukuran molekul doxorubicin (DOX)

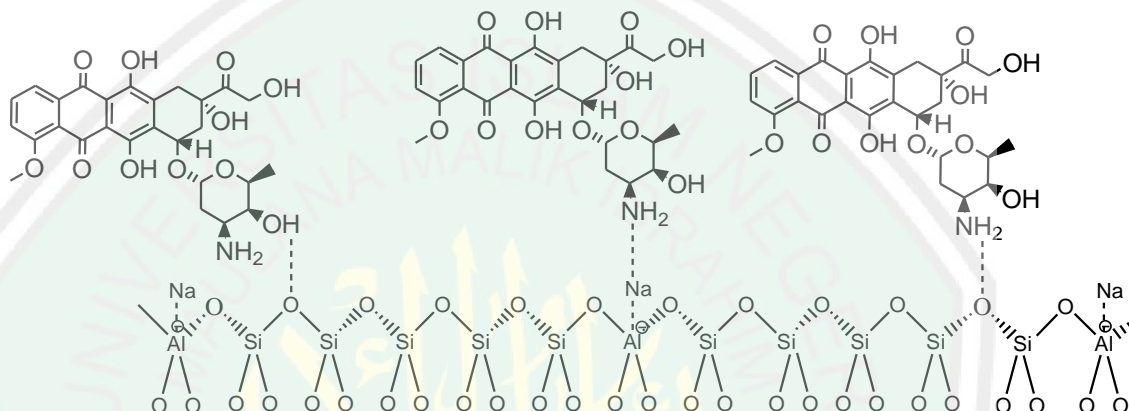
Perhitungan persentase efisiensi pengembanan dilakukan untuk mengetahui berapa banyak sampel yang berhasil teremban pada zeolit NaX. Perhitungan persentase efisiensi pengembanan menggunakan persamaan 3.1 dan hasilnya adalah semakin banyak DOX yang diembankan, maka persentase efisiensi juga semakin besar sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Persentase efisiensi pengembanan

Pengembanan DOX&zeolit NaX	Massa pengembanan (mg)	Massa hasil pengembanan (mg)	Efisiensi pengembanan (%)
1:10	40	60,3	33,66
2:10	40	78,8	49,24
5:10	40	144,2	72,26

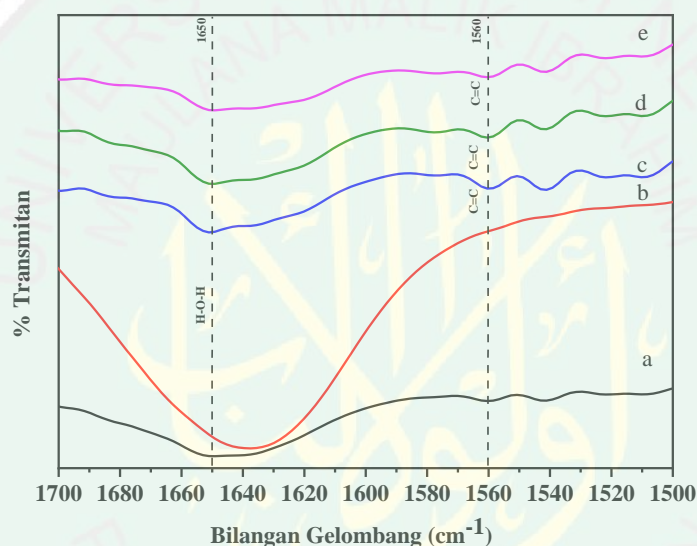
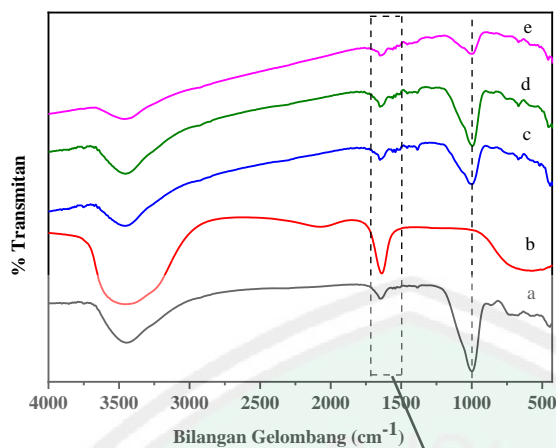
Interaksi yang terjadi antara molekul DOX dengan zeolit NaX adalah interaksi berupa ikatan hidrogen dan interaksi ion-dipol. Ikatan hidrogen yaitu terjadi antara atom H dalam ikatan polar dengan atom elektronegatif O, N, atau F. Dalam hal ini gugus aktif DOX yang berupa NH_2 akan berinteraksi dengan gugus

OH dari zeolit. Interaksi ion-dipol merupakan interaksi yang terjadi antara suatu ion dengan molekul polar. Pada pengembanan ini ion Na^+ akan berinteraksi dengan gugus NH_2 . Ion Na^+ berfungsi sebagai kation penyeimbang pada kerangka zeolit. Kekuatan interaksi dipengaruhi oleh ukuran ion, besarnya momen dipol dan ukuran molekul (Chang, 2005). Berikut merupakan dugaan interaksi yang terjadi seperti pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Dugaan interaksi yang terjadi antara zeolit NaX dengan DOX

Keberhasilan pengembanan DOX terhadap zeolit NaX dianalisis menggunakan instrument FTIR dengan mengetahui perubahan gugus fungsi antara zeolit NaX sebelum dan sesudah terjadinya pengembanan. Di bawah ini spektra pengembanan DOX terhadap zeolit dengan variasi kombinasi DOX:zeolit NaX 1:10, 2:10, dan 5:10 ditampilkan pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Spektra FTIR sampel (a) Zeolit NaX, (b) DOX, (c) Hasil Impregnasi perbandingan 1:10, (d) 2:10, (e) 5:10

Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa pita serapan sampel hasil impregnasi DOX:zeolit NaX 1:10, 2:10 dan 5:10 mengalami pergeseran pada bilangan gelombang 1640 cm^{-1} menjadi 1560 cm^{-1} (serapan C=C konjugasi), hal ini karena adanya tekukan dari gugus O-H zeolit pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} . Selain itu, intensitas zeolit pada bilangan gelombang 998 cm^{-1} mengalami penurunan karena adanya DOX yang terembankan.

Pita serapan zeolit NaX yaitu pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} (tekukan H-O-H), 998 cm^{-1} (regangan asimetris O-T-O internal), 668 cm^{-1} (regangan simetris O-T-O internal) dan 565 cm^{-1} (cincin ganda (D6R/D4R)) masih terlihat pada pita serapan sampel hasil impregnasi yang menunjukkan bahwa DOX tidak mempengaruhi pita serapan zeolit NaX.

Tabel 4.2. Interpretasi spektra FTIR sampel zeolit NaX dan hasil pengembangan (Arifah, 2018; Fitriana, 2018; Socrates, 2004)

Sampel	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Keterangan
Zeolit NaX	3448	Regangan O-H
	1650	Tekukan H-O-H
	998	Regangan asimetris O-T-O internal
	723	Regangan asimetris O-T-O eksternal
	672	Regangan simetris O-T-O internal
	579	Cincin ganda (D6R/D4R)
	446	Tekukan T-O-T
Doxorubicin	3460	Regangan O-H
	3440	Regangan simetris NH_2
	1640	C=C konjugasi
	580	Methyl Aromatic Ethers C-O-C
	499	Eto-C (ethers)
Dox:Zeolit NaX 1:10	3452	Regangan O-H
	1650	Tekukan H-O-H
	1560	C=C konjugasi
	998	Regangan asimetris O-T-O internal
	669	Regangan simetris O-T-O internal
	546	Cincin ganda (D6R/D4R)
Dox:Zeolit NaX 2:10	3452	Regangan O-H
	1650	Tekukan H-O-H
	1560	C=C konjugasi
	994	Regangan asimetris O-T-O internal
	668	Regangan simetris O-T-O internal
	557	Cincin ganda (D6R/D4R)
Dox:Zeolit NaX 5:10	3463	Regangan O-H
	1649	Tekukan H-O-H
	1560	C=C konjugasi
	998	Regangan asimetris O-T-O internal
	668	Regangan simetris O-T-O internal
	565	Cincin ganda (D6R/D4R)

Keterangan:
T = Si atau Al

4.2 Uji Aktivitas Antikanker

Uji aktivitas antikanker dilakukan untuk mengetahui potensi DOX yang diimbangkan pada zeolit NaX dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh sel kanker payudara T47D. Uji aktivitas antikanker dilakukan secara *in vitro* dengan metode MTT (*Microculture Tetrazolium*). Prinsip metode ini adalah mengukur aktivitas sel berdasarkan kemampuan enzim reduktase dalam mereduksi garam kuning tetrazolium MTT sehingga membentuk kristal formazan. MTT diabsorpsi oleh sel hidup dan mengalami reaksi reduksi oleh enzim reduktase membentuk kristal formazan berwarna ungu yang terjadi dalam rantai respirasi mitokondria (Ambasari, 2018). Jika intensitas warna ungu yang dihasilkan semakin tinggi maka jumlah sel hidup juga semakin banyak.

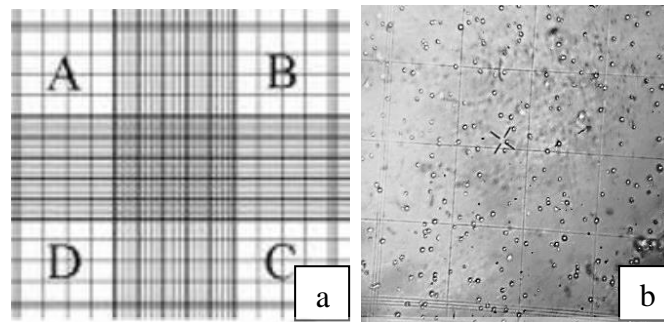
Pengujian aktivitas antikanker dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu: 1) penyiapan sel kanker 2) panen sel 3) perhitungan sel 4) uji sitotoksitas dan 5) pembacaan absorbansi. Penyiapan sel dilakukan dalam medium RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) dengan menghidupkan kembali sel yang telah ditidurkan (*inaktif* sel) dan ditumbuhkan kembali hingga sel menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur (*culture dish*).

Medium RPMI adalah media kultur yang baik untuk menumbuhkan sel kanker payudara T47D (Winarno, 2011). Rahmatika (2019) mengatakan bahwa medium RPMI memberikan nutrisi yang dibutuhkan sel untuk bertahan hidup dan memperbanyak diri. Media kultur (MK) mengandung suplemen peningkat pertumbuhan berupa FBS (*fetal bovine serum*) yang berperan sebagai serum, penyedia nutrisi yang esensial dan berisi berbagai substansi yang dibutuhkan sel untuk tumbuh dan hidup dengan baik. Media kultur juga mengandung asam

amino, vitamin, glukosa, garam, dan berbagai suplemen organik. Komposisi dari media kultur adalah FBS 10 %, *penislin streptomisin* 2 %, fungizone 0,5 % dan medium RPMI ditambahkan hingga 100 %. Adanya penambahan *penislin streptomisin* berfungsi sebagai antibiotik yang tidak bersifat toksik, memiliki spektrum antimikroba luas dan ekonomis (Zairisman, 2006).

Panen sel dilakukan ketika sel telah berkembangbiak dan tumbuh memenuhi 80 % wadah kultur. Sel tersebut dicuci menggunakan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) untuk menghilangkan serum dalam media kultur. Penambahan *trypsin-EDTA* dilakukan untuk melepaskan sel yang menempel di dasar wadah kultur dan dari ikatan-ikatan antar sel (agar sel tidak menggumpal). Prinsip dari panen sel adalah melepaskan ikatan sel tanpa merusak sel itu sendiri (CCRC, 2009). Keadaan sel tersebut diamati dibawah mikroskop *inverted* dan hasilnya adalah terdapat perubahan fisiologi pada sel.

Penentuan jumlah panen sel dilakukan dengan menghitung sel menggunakan alat *hemacytometer* dan keadaan sel diamati dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Syarat perhitungan sel dengan *hemacytometer* adalah sel harus berdiri sendiri tidak menggumpal atau menggerombol (CCRC, 2009). Dihitung sel pada 4 kamar *hemacytometer* yang terdiri dari kamar A, B, C dan D. Hasil perhitungan sel adalah 197×10^4 sel/mL. Sehingga dapat dihitung jumlah sel kanker yang dibutuhkan dengan menggunakan persamaan 3.4 dan hasilnya adalah 0,5076 mL. Selanjutnya sel kanker ditambahkan media kultur hingga total volume mencapai 10 mL. Adapun Kamar *hemacytometer* dan morfologi sel dalam *hemacytometer* dapat dilihat pada Gambar 4.5



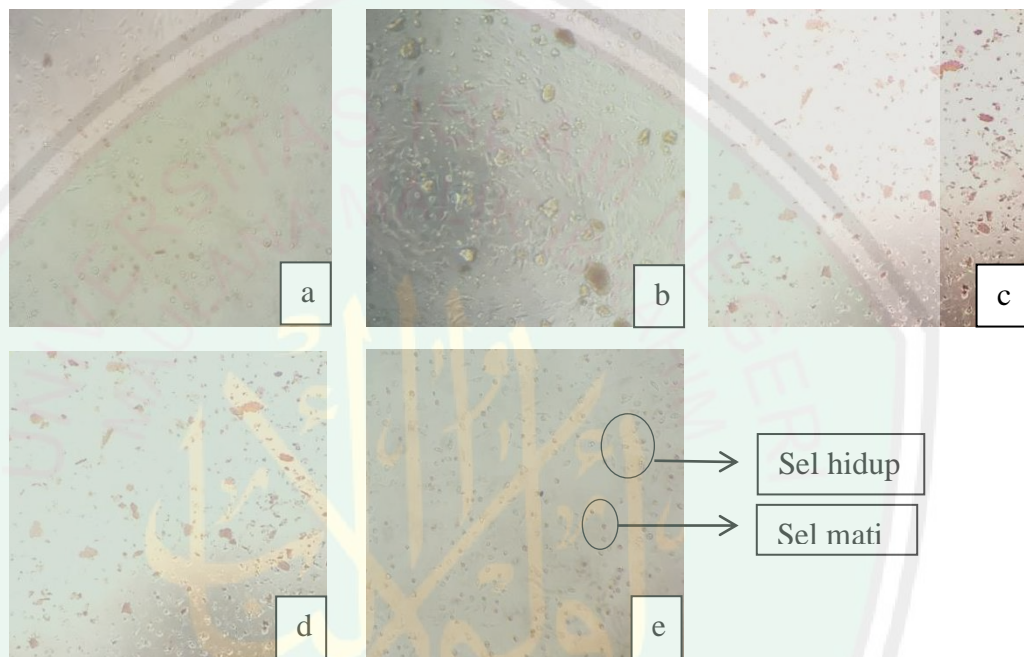
Gambar 4.5 a) Kamar dalam *Hemacytometer* dan b) keadaan sel dalam kamar

Uji sitotoksik meliputi subkultur sel, preparasi sampel dan *treatment* sel. Subkultur sel dilakukan dengan memindahkan sel yang sudah konfluen ke tempat yang masih kosong agar sel yang akan digunakan untuk pengujian dapat tumbuh lebih maksimal pada medianya. Dikatakan konfluen jika sel sudah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur.

Preparasi sampel dimulai dengan penimbangan sampel, pelarutan sampel dengan DMSO (*dimethyl sulfoxide*) dan penentuan konsentrasi. DMSO berfungsi sebagai buffer dan dapat melarutkan sampel dengan baik. DMSO juga dapat melarutkan senyawa polar, non polar maupun semi polar dan tidak memiliki efek samping terhadap pertumbuhan sel (Lestari, 2017). Penentuan konsentrasi berdasarkan kelipatan dari konsentrasi sampel agar menghasilkan regresi yang standar. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; dan 1,5625 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

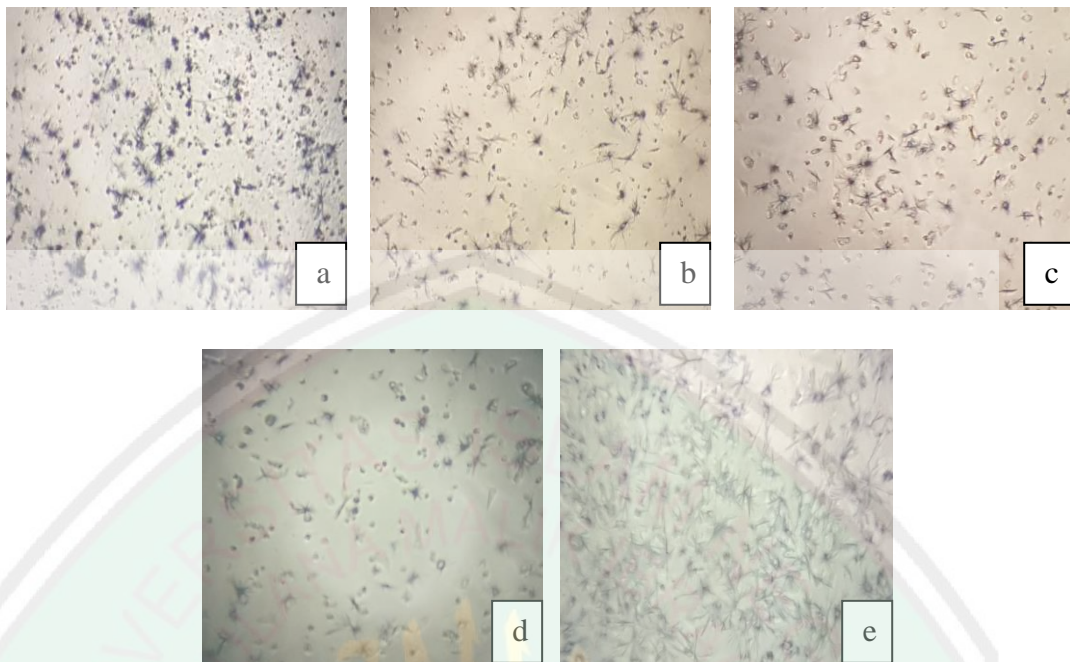
Treatment sel dilakukan dengan menambahkan sampel pada tiap konsentrasi dan didiamkan selama 24 jam. Morfologi sel kanker payudara setelah di *traetment* diamati di bawah mikroskop *inverted* dan hasilnya adalah jumlah sel yang mati pada konsentrasi tinggi (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) lebih banyak dari pada konsentrasi

dibawahnya. Perbedaan morfologi sel hidup jika diamati dibawah mikroskop *inverted* berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berdempet dengan sel lain dan dinding sel terlindungi sehingga terlihat menempel pada dasar wadah kultur dan terlihat bersinar. Sedangkan untuk sel yang mati berbentuk bulat, berwarna hitam dan terlihat mengapung. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.6



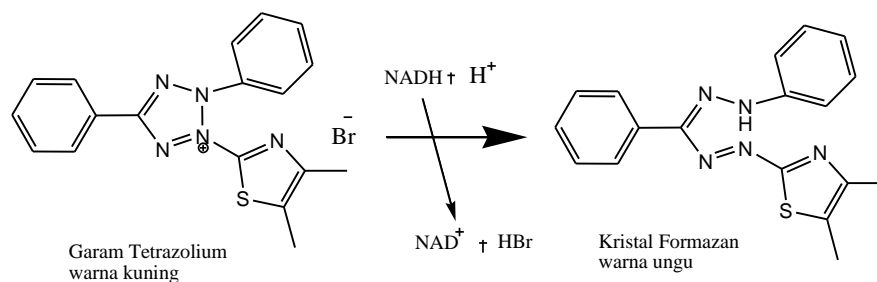
Gambar 4.6 Morfologi sel T47D konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ hasil *treatment* (a) Doxorubicin (b) Zeolit (c) Kombinasi DOX:zeolit 1:10 (d) 2:10 (e) 5:10

Kemampuan sampel dalam menghambat pertumbuhan sel kanker (T47D) dapat diketahui secara kualitatif dengan mengamati perubahan warna dan morfologi sel kanker setelah pemberian reagen MTT. Warna kuning pada reagen MTT hanya akan diserap oleh sel hidup dan akan mengalami perubahan warna menjadi ungu (formazan). Morfologi sel yang hidup berbentuk serabut sebagaimana Gambar 4.7



Gambar 4.7 Morfologi sel T47D setelah pemberian MTT kombinasi DOX:zeolit (a) 1:10 (b) 2:10 (c) 5:10 (d) DOX (e) zeolit

Semakin tinggi intensitas warna ungu yang dihasilkan, maka semakin banyak persentase sel yang masih hidup dan mengindikasikan bahwa tidak terdapat aktivitas antikanker. Hal ini ditandai dengan banyaknya morfologi sel yang berbentuk serabut. Sedangkan jika warnanya tetap (kuning) menunjukkan adanya aktivitas antikanker dan menunjukkan banyaknya persentase sel yang mati. Perubahan warna yang terjadi karena adanya reaksi reduksi oleh enzim *NADH dehydrogenase* yang terjadi dalam mitokondria sel. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada Gambar 4.8



Gambar 4.8 Reaksi reduksi MTT

Reaksi reduksi MTT menyebabkan adanya perubahan warna yang disebabkan oleh enzim *NADH dehydrogenase*. Enzim ini mereduksi NADH dengan melepas H^+ dan berikatan dengan tetrazolium yang menyebabkan pemutusan ikatan sehingga dapat membuka cincin tetrazolim (warna kuning) dan mengubah bentuk menjadi kristal formazan (warna ungu). Kristal formazan bersifat basa dan tidak larut sehingga untuk melarutkan dan menghambat reaksi enzimatis ditambahkan reagen *stopper* natrium dodesil sulfat (SDS) 10% dalam HCL 0,01 N. Struktur natrium dodesil sulfat dapat dilihat pada Gambar 4.9



Gambar 4.9 Struktur natrium dodesil sulfat (SDS) (Caligur, 2008)

Penambahan larutan SDS akan mendenaturasi rantai polipeptida pada membran sel melalui interaksi yang terjadi antara gugus sulfat (SO_4) dari struktur SDS yang bersifat hidrofilik dengan rantai samping asam amino, sedangkan gugus

hidrofobik akan berinteraksi dengan gugus hidrofobik protein yang menyebabkan membran sel mengalami lisis (Fitriana, 2019) sehingga menyebabkan kristal formazan larut dan dapat keluar dari dalam sel.

Pengukuran absorbansi dilakukan dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Warna yang teramati pada larutan adalah ungu kebiruan sehingga yang akan diserap oleh spektra sinar tampak adalah kuning. Data yang dihasilkan berupa nilai absorbansi dan dapat digunakan untuk mengetahui potensi sel dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan kanker. Semakin tinggi nilai absorbansi maka persentase sel hidup juga semakin banyak.

Ketoksikan suatu sampel juga dapat diamati melalui perubahan warna yang terjadi pada *plate 96-well* setelah pemberian garam SDS. Sampel dengan konsentrasi tinggi yaitu 100 µg/mL dan 50 µg/mL pada variasi perbandingan 1:10, 2:10 dan 5:10 berwarna *orange*. Sedangkan pada konsentrasi dibawahnya yaitu 25; 12,5; 6,25; 3,125; dan 1,5625 µg/mL memiliki warna ungu yang menunjukkan bahwa persentase sel hidup dalam jumlah tinggi.

Nilai absorbansi yang diperoleh dari hasil analisis menggunakan ELISA *reader* selanjutnya dihitung menggunakan *Microsoft Excel* sehingga didapatkan nilai persentase sel hidup (persen viabilitas sel) dengan konsentrasi yang kemudian diolah menggunakan SPSS melalui analisis probit, selanjutnya diperoleh nilai IC_{50} dari masing-masing sampel. Nilai IC_{50} yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Data nilai IC_{50} uji aktivitas antikanker

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Doxorubicin (DOX)	1,12
Zeolit NaX	17,83
Kombinasi Dox : zeolit 1:10	4,94
Kombinasi Dox : zeolit 2:10	4,80
Kombinasi Dox : zeolit 5:10	3,34

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa hasil uji aktivitas antikanker DOX tunggal memiliki nilai IC_{50} 1,12 $\mu\text{g/mL}$, setelah diimbangkan pada zeolit NaX memiliki nilai IC_{50} yang lebih besar. Hal ini karena adanya zeolit sebagai pengemban dapat mengontrol laju pelepasan DOX, sehingga menyebabkan molekul DOX terlepas dari zeolit secara perlahan. Pada penelitian ini pengembanan DOX terhadap zeolit terjadi di permukaan dan tidak masuk ke dalam pori zeolit.

Pengembanan paling efektif pada penelitian ini adalah pada sampel kombinasi 5:10 karena jumlah DOX yang diimbangkan adalah setengah dari jumlah pengemban zeolit NaX. Semakin banyak jumlah DOX yang diimbangkan maka semakin banyak sisi aktif dari DOX yang berikatan dengan sisi aktif dari zeolit NaX (Putra dan Mustika, 2016) sehingga pengembanan dan kontrol pelepasan obat terjadi secara maksimal dan menghasilkan nilai IC_{50} terendah. Hal ini didukung dengan persentase efisiensi pengembanan pada Tabel 4.1 bernilai lebih tinggi daripada sampel kombinasi yang lain yaitu 72,26 %. Selain itu, juga didukung oleh hasil analisis FTIR pada Gambar 4.4 yang menunjukkan berkurangnya intensitas pada gugus regangan asimetris O-T-O internal (khas zeolit) pada pengembanan DOX:zeolit NaX.

Hasil uji aktivitas antikanker semua sampel kombinasi lebih rendah daripada zeolit NaX. Hal ini menunjukkan bahwa zeolit NaX dalam penelitian ini

berpotensi sebagai pengemban dan dapat mengontrol laju pelepasan obat secara maksimal. Zeolit berpotensi sebagai pengantar obat karena telah memenuhi syarat yaitu memiliki struktur yang berpori, non toksik dan bersifat *biocompatibility* yang baik (Wen, dkk., 2017).

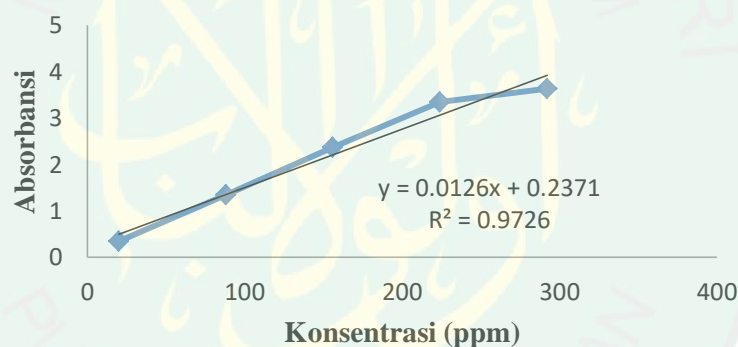
Hasil uji aktivitas antikanker sampel zeolit NaX pada penelitian ini yaitu 17,83 $\mu\text{g/mL}$. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa zeolit aktif sebagai antikanker yaitu dapat menghambat dan membunuh sel kanker payudara (T47D). Partikel zeolit masuk ke dalam sel dan berperan sebagai pembawa eksogen dan menyebabkan kerusakan oksidatif. Kerusakan oksidatif disebabkan karena meningkatnya jumlah *reactive oksigen spesies* (ROS) yaitu NADH, NAD^+ , ATP dan Pi. Mekanisme lain didasarkan oleh lepasnya partikel ion logam zeolit melalui aktivasi kalsium yang dapat mempengaruhi jalur perbaikan DNA dan menyebabkan perubahan epigenik yang dapat meningkatkan jumlah ROS (Jesudos, dkk., 2018). Peningkatan ROS menyebabkan DNA mengalami kerusakan, apoptosis, kerusakan membrane sel dan kerusakan komponen organ vital sel yang lain, hal ini karena ROS bersifat radikal (Carvalho, dkk., 200).

Berdasarkan *National Cancer Institute* melaporkan bahwa senyawa dikatakan aktif sebagai antikanker apabila memiliki nilai $\text{IC}_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif apabila nilai IC_{50} 30-100 $\mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif apabila $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (Rahmawati, 2013). Penelitian ini menunjukkan bahwa DOX, zeolit NaX dan sampel DOX:zeolit NaX 1:10, 2:10 dan 5:10 dapat dikatakan aktif sebagai antikanker karena memiliki nilai $\text{IC}_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$.

4.3 Analisis Laju Pelepasan Doxorubicin yang diimbangkan pada Zeolit NaX

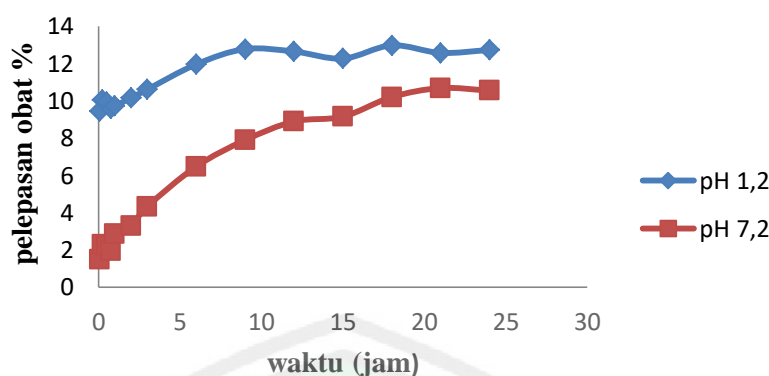
Laju pelepasan DOX yang diimbangkan pada zeolit NaX menggunakan sampel kombinasi DOX:zeolit 5:10 yang memiliki nilai IC_{50} terbaik yaitu 3,34 $\mu\text{g/mL}$ dilakukan dengan membandingkan kondisi keasaman lambung pH 1,2 dan darah pH 7,2. Tujuannya untuk mengetahui efisiensi dan efektivitas zeolit NaX sebagai pengemban dan pengontrol obat. Analisis laju pelepasan DOX dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 481 nm. Hasil yang didapatkan yaitu nilai absorbansi. Untuk mengetahui konsentrasi sampel maka dilakukan perbandingan absorbansi sampel dengan absorbansi larutan standar DOX. Hasil absorbansi larutan standar DOX diperoleh grafik pada

Gambar 4.10



Gambar 4.10 Kurva standar Doxorubicin (DOX)

Hasil analisis sampel DOX:zeolit dalam larutan HCL 0,1 N (pH 1,2) dan larutan HCL:buffer (pH 7,2) menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan hasil berupa nilai absorbansi sampel. Semakin besar nilai absorbansi maka konsentrasi DOX yang lepas dari zeolit NaX juga semakin tinggi. Persentase pelepasan DOX dari zeolit NaX selama 24 ditampilkan pada gambar 4.11



Gambar 4.11 Pelepasan DOX dari zeolit NaX selama 24 jam pada kondisi pH 1,2&7,2 perbandingan 5:10

Berdasarkan Gambar 4.11 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah persentase molekul obat yang terlepas dari zeolit dalam waktu yang sama (24 jam). DOX dapat terlepas maksimum pada pH 1,2 sebanyak 13% sedangkan pada pH 7,2 sebanyak 10,7%. Hal ini menunjukkan bahwa pelepasan DOX dipengaruhi oleh keasaman lingkungan karena DOX bertindak sebagai hidroklorida yang larut dalam air (DOX:HCl) sedangkan dalam lingkungan netral molekul DOX cenderung bersifat hidrofobik yang tidak larut dalam air (Li dkk., 2018). Dadsetan, dkk. (2013) melaporkan bahwa DOX terlepas maksimum dari *microgels* pada larutan PBS sebanyak 70% (pH 5) dan 50% pH (7,4), sedangkan pada larutan dH₂O (*deionized water*) sebanyak 98% (pH 3) dan 27% (pH 5) selama 15 hari.

Zeolit sebagai pengantar DOX dapat stabil dalam lingkungan asam atau basa karena mempunyai PZC (*point of zero charge*) yaitu 4-8,5 (Schubert, 2012). Nilai PZC tersebut tidak mempengaruhi struktur, namun berpengaruh terhadap muatan inti zeolit. Jika $\text{pH} < \text{PZC}$ (kondisi asam) maka muatan inti zeolit positif (OH_2^+), sedangkan jika $\text{pH} > \text{PZC}$ (kondisi basa) muatan inti menjadi negatif (O^-).

Adapun DOX bermuatan positif dalam keadaan asam dan negatif dalam keadaan basa (Gu, dkk., 2012). Khodaverdi, dkk. (2016) melaporkan bahwa dalam kondisi basa total muatan negatif pada pengemban dan yang diembankan (zeolit dan DOX) menyebabkan adanya tolakan yang mengakibatkan lepasnya DOX dari zeolit menjadi lambat, sedangkan dalam kondisi asam terjadi interaksi antara DOX dengan zeolit yang dapat meningkatkan adsorpsi lebih cepat.

4.4 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Penelitian ini bertujuan untuk mengurangi efek samping dari obat doxorubicin (DOX). Salah satu upaya yang dilakukan dalam bidang biomedis yaitu mengaplikasikan DDS (*drug delivery sistem*) atau sistem pengantar obat. Salah satu material yang dikembangkan sebagai DDS adalah zeolit. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa zeolit berpotensi sebagai DDS karena mempunyai pori yang seragam dan luas permukaan yang besar, sehingga mampu mengontrol laju pelepasan obat agar berada dalam jalur yang sesuai untuk membunuh sel kanker.

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai IC_{50} pada sampel DOX:zeolit NaX 1:10; 2:10 dan 5:10 berturut-turut yaitu 4,94 $\mu\text{l/mL}$, 4,80 $\mu\text{l/mL}$ dan 3,34 $\mu\text{l/mL}$. Sedangkan nilai IC_{50} DOX tunggal adalah 1,12 $\mu\text{l/mL}$ dan zeolit NaX yaitu 17,83 $\mu\text{l/mL}$, nilai tersebut menunjukkan bahwa dalam penelitian ini DOX lebih baik digunakan tanpa adanya pengembanan sedangkan zeolit NaX dapat digunakan sebagai pengemban karena hasil IC_{50} sampel lebih kecil dibandingkan zeolit NaX. Semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa maka semakin toksik terhadap sel kanker. Penelitian ini menggunakan zeolit NaX sebagai pengemban karena memiliki pori

dan luas permukaan besar dengan sisi aktif yang dapat berinteraksi dengan sisi aktif dari DOX sehingga dapat mengontrol pelepasan obat dan menyebabkan obat dapat mengenai sel kanker target. Meskipun demikian zeolit juga di aplikasikan di berbagai bidang biomedis yang lain seperti antibakteri, penyembuh luka, *diabetes mellitus*, biosensor untuk deteksi senyawa beracun dan antioksidan (Putra, 2016).

Pemanfaatan material zeolit membuktikan bahwa tidak ada sesuatu yang sia-sia di muka bumi ini. Zeolit sebagai material anorganik yang tak hidup memiliki potensi yang pemanfaatannya dapat digunakan di berbagai bidang. Oleh karena itu Allah SWT menganjurkan kepada hambanya untuk selalu memikirkan dan memahami kebesaran dan kekuasaannya dengan melihat seluruh ciptaannya sebagaimana firman Allah dalam QS. Ali Imran ayat 190-191 terkait ciri-ciri manusia yang *ulul albab*

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَبْصَارِ (۱۹۰) الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطُلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (۱۹۱)

Artinya : "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka." (QS. Ali Imran: 190-191).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan langit, bumi dan seisinya dengan tanpa alasan, semuanya tidak lain hanya untuk kemaslahatan para hambanya yang wajib disyukuri dan dimanfaatkan sebaik-baiknya. Adanya manfaat yang cukup luas menjadikan kita sebagai manusia untuk berfikir dan memahami lebih dalam mengenai sifat dan kandungannya. Sebagai seorang

muslim yang berakal dan paham dengan apa yang ada di dunia ini akan berpikir tidak ada satupun ciptaan Allah yang sia-sia (Kementrian Agama RI, 2010) semuanya mempunyai kelebihan dan kekurangan yang saling berkesinambungan, baik ciptaan Allah yang hidup maupun yang tak hidup seperti zeolit.

Penelitian ini menunjukkan dengan adanya ilmu pengetahuan kita dituntut untuk mampu mengelola sumber daya alam dengan optimal. Penelitian-penelitian terdahulu mengenai penerapan zeolit sebagai adsorben dapat ditingkatkan dalam hal biomedis seperti DDS (*drug delivery sistem*), antibakteri, biosensor untuk deteksi senyawa beracun dan masih banyak lagi. Hal ini menunjukkan ilmu pengetahuan sangat penting bagi kehidupan manusia di dunia dan bekal menuju akhirat. Dalam skala kecil terdapat banyak ilmu pengetahuan yang belum terungkap, Allah SWT berfirman dalam surat Al Kahfi ayat 109

فَلَوْ كَانَ الْبَحْرُ مَدَادًا لَكَلِمَاتِ رَبِّي لَنَفِدَ الْبَحْرُ قَبْلَ أَنْ تَنْفَدَ كَلِمَاتُ رَبِّي وَلَوْ جِئْنَا بِمِثْلِهِ مَدَدًا

Artinya: “Katakanlah: “ Kalau sekiranya lautan menjadi tinta untuk (menulis) kalimat-kalimat Tuhanku, sungguh habislah lautan itu sebelum habis (ditulis) kalimat-kalimat Tuhanku, meskipun Kami datangkan tambahan sebanyak itu (pula)”. (QS. Al-Kahfi:109).

Ayat ini menjelaskan bahwa ilmu pengetahuan Allah SWT tidak akan pernah habis meskipun digali dan dituangkan dalam bentuk tulisan. Jika air laut adalah tinta tidaklah cukup untuk menuliskan ilmu pengetahuan yang Allah SWT ciptakan, bahkan jika air laut tersebut ditambahkan dengan jumlah yang sama dengan jumlah awalnya, tetap tidak mampu menuliskan semua pengetahuan yang diciptakan oleh Allah SWT (Abdullah, 2007). Tafsir tersebut menjelaskan bahwa ilmu pengetahuan yang diciptakan Allah SWT tidak terhingga sehingga

manusia tak akan mampu mengungkap semua ilmu pengetahuan tersebut. Pengetahuan tentang zeolit mungkin hanya sebagian kecil dari pengetahuan Allah SWT jika diteliti lebih lanjut mungkin tidak akan ada habisnya. Hal ini seharusnya menambah keyakinan dan keimanan kita terhadap kebesaran dan kekuasaan Allah SWT.





BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Doxorubicin yang diembankan pada zeolit NaX dengan variasi doxorubicin:zeolit NaX 1:10, 2:10 dan 5:10 memiliki nilai IC_{50} 4,94 $\mu\text{g/mL}$; 4,80 $\mu\text{g/mL}$ dan 3,34 $\mu\text{g/mL}$, sehingga dapat diketahui bahwa dalam penelitian ini doxorubicin yang diembankan pada zeolit berpotensi sebagai antikanker.
2. Hasil karakterisasi zeolit NaX sebagai pengemban doxorubicin menunjukkan adanya penurunan intensitas pita serapan khas zeolit pada bilangan gelombang 998 cm^{-1} yang mengindikasikan bahwa doxorubicin berhasil terembankan pada zeolit NaX.

5.2 Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya agar menggunakan *Drug Delivery Sistem* atau sisten pengantar obat selain zeolit NaX.
2. Perlu dilakukan uji pelepasan obat dengan waktu lebih dari 24 jam untuk mengetahui jumlah maksimum terlepasnya obat dari pengemban.
3. Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan uji secara *in-vivo* karena berdasarkan nilai IC_{50} semua sampel aktif sebagai antikanker

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i
- Aka, Juliette Adjo dan Lin, Sheng-Xiang. 2012. Comparison of Functional Proteomic Analyses of Human Breast Cancer Cell Line T47D and MCF7. *Journal Proteomic Analyses of Breast Cancer Cell Line*. Vol. 7 (2)
- Ambarsari, Rika. 2018. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun *Selaginella willdenowii* terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Amorim, R., Vilaca, N., Martinho, O., Reis, R. M., Sardo, M., Rocha, J., Fonseca, A. M., Baltazar, F., dan Neves, I. C. 2012. Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compound as Drug Delivery Systems. *Journal of Physical Chemistry C*, 116: 25642-25650.
- Arifah, Aminatus. 2018. Sintesis Zeolit NaX dari Kaolin Blitar dengan Alkali Fusi menggunakan Metode Hidrotermal dan Sniikasi variasi Waktu Kristalisasi. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Arifianti, L., Sukardiman., Studiawan, H., Rakhmawati., dan Megawati, L. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel Kanker Mamalia Secara *In Vitro*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol.1 (2)
- A, Setiawati., Susidarti, R. A., dan Meiyanto, E. 2011. Peningkatan Efek Sitotoksik Doxorubicin Oleh Hesperidin Pada Sel T47d. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik* Vol. 13 (2)
- Baerlocher, C. M. 2007. *Atlas of Zeolite Framework Types Fifth Revised Edition*. Elsevier.
- Burdall, S. E., Hanby, M. A., Landsdown, M. RJ., dan Speirs, V. 2003. Breast Cancer Cell Lines: Friend or Foe? *Breast Cancer Research*. Vol 5 (2)
- Cabeza., L., Ortiz, R., Arias, J. L., Prados, J., Ruiz, M. A., Martinez., Entrena, J. M., Luque, R., dan Melguizo, C. 2015. Enhanced Antitumor Activity of Doxorubicin in Breast Cancer Through the Use of Poly(butylcyanoacrylate) Nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. Vol 10: 1291-1306
- Caligur, Vicki. 2008. Detergents and Solubilization Reagents. *Journal Biofiles*. Vol 3 (3)

- Carvalho, C., Santos, R. X., Cardoso, S., Correira, S., Oliveira, P. J., Santos, M. S., dan Moreira, P. I. 2009. Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect. *Journal Current Medicinal Chemistry*. Vol 16: 3267-3285
- Chang, Raymond. 2005. *Kimia Dasar: Konsep-Konsep Inti Jilid 1*. Bandung: Erlangga
- CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center). 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada
- Dadsetan, M., Taylor, K. E., Yong, C., Bajzer, Z., Lu, L., dan Yaszemski, M. J. 2013. Controlled Release of Doxorubicin from pH-Responsive Microgels. *Acta Biomaterials*; 9: 5438-5446
- Datt, Ashish. 2012. Applications of Mesoporous Silica and Zeolites for Drug Delivery. *Theses and Dissertations*. University of Iowa.
- Dinda, Atikah Sudiyono. 2016. Sintesis dan Karakterisasi Zeolit NaY sebagai Pengemban Senyawa Antikanker Hasil Ekstrak Etanol Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Divband, B., Rashidi, M. R., Khatamian, M., Eslamian, G. R. K., Gharehaghaji, N., dan Tabriz, F. D. 2018. Linda Type A and Nano Magnetite/NaA Zeolites: Cytotoxicity and Doxorubicin Loading Efficiency. *Research Article*; 16: 21-28
- Fitriana, Syaifud Dina. 2019. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Isolat Tanin Rumpun Bambu (*Lophaterum Gracile* B.) yang diemban pada Zeolit NaX Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metode MTT. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Gessler, M. C., Nkunya, M. H. H., Mwasumbi, L. B., Heinrich, M dan Tanner, M. 1994. Screening Tanzanian Medical Plants for Antimalarial Activity. *Acta Tropica*, 56: 65-77
- Ghazi, N. A., Hussain, K. I. A., Malek, N. A. N. N., dan Hamdan, S. 2013. The Effect of Zeolite X and Y on Cancer Cell Lines. *Journal of Science and Technology*, 33-40
- Ghebeh, H., Lehe C., Brhoush, E., Al-Romali, K., Tulban, A Al-Alwan, M., Hendrayani, S. T., Manogaran, P., Alaiya, A., Al-Tweigeri, T., Aboussekhra, A., Dermime, S. 2010. Doxorubicin Downregulates Cell Surface B7-H1 Expression And Upregulates its Nuclear Expression in Breast Cancer Cells: Role Of B7-H1 as an Anti-Apoptotic Molecule. *Breast Cancer Research*. 12:R48

- Gu, J., Su, S., Zhu, M., Li, Y., Zhao, W., Duan, Y., dan Shi, J. 2012. Targeted Doxorubicin Delivery to Liver Cancer Cells by PEGylated Mesoporous Silica Nanoparticles with a pH-Dependent Release Profile. *Journal Microporous and Mesoporous Materials*. 161: 160-167
- Haag, W.O. 1984. *Catalysis by Zeolite Science and Technology in Zeolite: Related Microporous Materials*. Amsterdam: Elsevier.
- Hakeem, Abdul., Zahid, F., Zhan, G., Yi, P., Yang, H., Gan, L., dan Yang, X. 2018. Polyaspartic Acid-Anchored Mesoporous Silica Nanoparticles for pH-Responsive Doxorubicin Release. *International Journal of Nanomedicine*. 1029-1040.
- Hanif, Q. A., Nugraha, R. E., dan Lestari, W. W. 2018. Kajian *Metal–Organic Frameworks* (MOFs) sebagai Material Baru Pengantar Obat. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 14(1)
- Hwang, C. L., dan Chandra, S. 2008. *The Use of Rice Husk Ash in Concrete. Waste Materials Used in Concrete Manufacturing*. USA: Noyes Publications.
- Istiqomah, A., Muti'ah, R dan Hayati, E. K. 2015. Anticancer Activity against Breast Cancer Cells T47D and Identification of Its Compound from Extracts and Fractions of Leaves Bamboo Grass (*Lophaterum gracile B.*). *Jurnal ALCHEMY*, Vol. 4 No. 1.
- Jesudos, S. K., Vijaya, J. J., Kaviyarasu, K., Kennedy, L. J., Ramalingan, R. J., dan Al-Lohedan, H. A. 2018. Anti-Cancer Activity of Hierarchical ZSM-5 Zeolites Synthesized from Rice-Based Waste Materials. *paper royal society of chemistry*. 8: 481
- Johnson, E. B. G dan Arshad, E. 2014. Hydrothermally Synthesized Zeolites Based on Kaolinite: A Review. *Applied Clay Science*, 97 – 98: 215 – 221.
- Kamba, S. A., Ismail, M., Hussein-Al-Ali, S. H., Ibrahim, T. A. T., dan Zakaria, Z. A. B. 2013. *In Vitro* Delivery and Controlled Release of Doxorubicin for Targeting Osteosarcoma Bone Cancer. *Article molecules*. ISSN 1420-3049
- Kementerian Agama RI. 2010. *Al-Qur'an & Tafsirnya Jilid II Juz 4-5-6*. Jakarta: Departemen Agama RI
- Khodaverdi, E., Soleimani, H. A., Mohammadpour, F., dan Hadizadeh, F. 2016. Synthetic Zeolites as Controlled-Release Delivery System for Anti-Inflammatory Drugs. *Journal Chem Bio Drug*. 87: 849-857

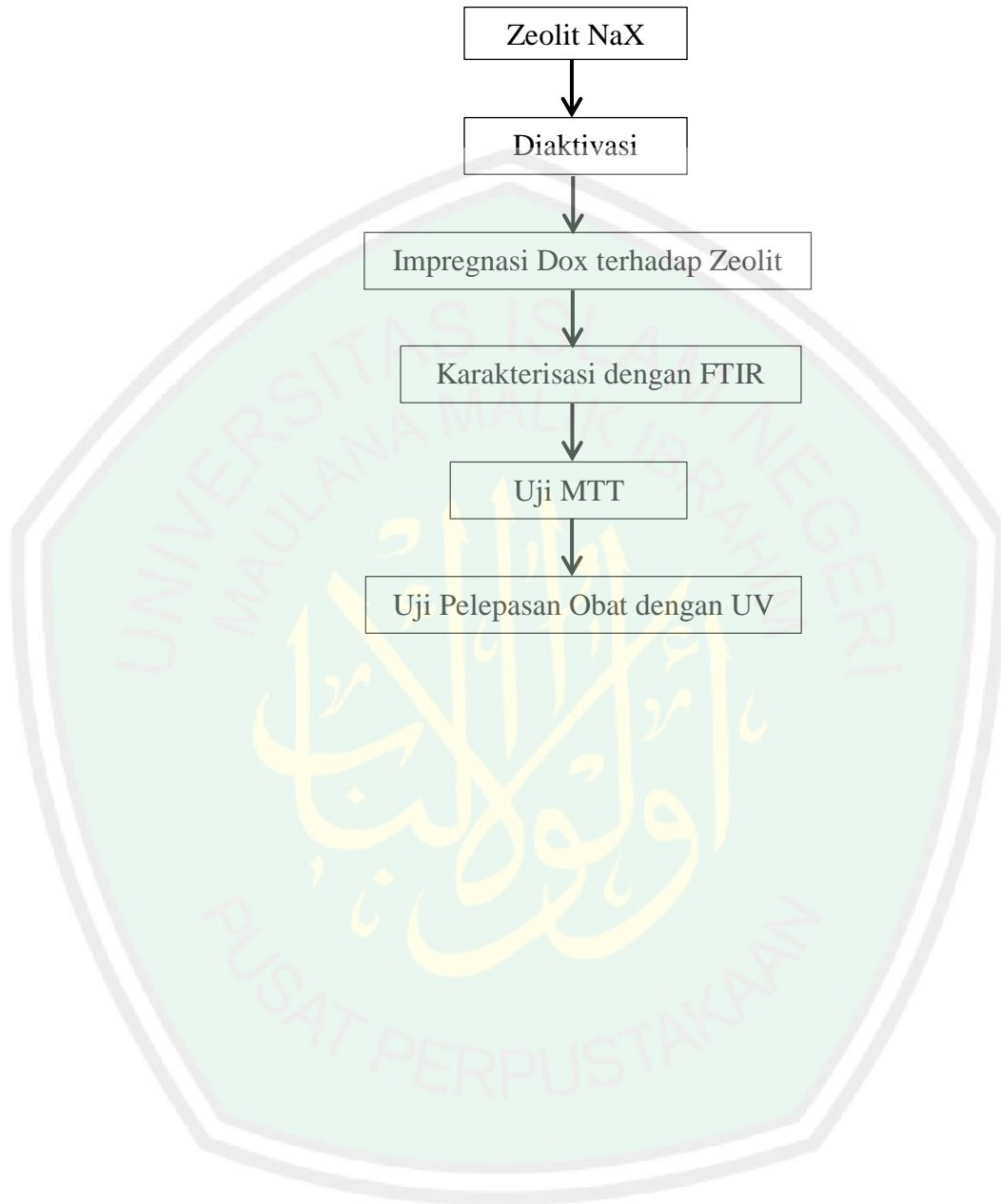
- Lestari, Andini Mulya. 2017. Isolasi Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris* L.) terhadap Sel Kanker Serviks. *Skripsi* Jurusan Farmasi UIN Alauddin Makassar.
- Li, K., Zhang, Y., Chen, M., Hu, Y., Jiang, W., Zhou, L., Li, S., Xu, M., Zhao, Q., dan Wan, R. 2018. Enhanced Antitumor Efficiency of Doxorubicin-Encapsulated Halloysite Nanotubes. *International Journal of Medicine*: 13: 19-30
- Liang, Po-Chin., Chen, Y., Chiang, C. Mo. L., Wei, S., Hsieh, W., dan Lin, W. Doxorubicin-Modified Magnetic Nanoparticles As A Drug Delivery System for Magnetic Resonance Imaging-Monitoring Magnet-Enhancing Tumor Chemotherapy. *International Journal of Nanomedicine*. vol 11: 2021–2037
- Lilbaiq, Fifti Zuyyina. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak yang Diembankan pada Zeolit NaX menggunakan Metode Impregnasi Kering Sebagai Antikanker Payudara. *Skripsi* Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Masoudian, S.K., Sadighi, S., dan Abbasi, A. 2013. Synthesis and Characterization of High Aluminum Zeolit X From Technical Grade Materials. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis*, 8(1) 54 – 60.
- Matyszewska, Dorota. 2014. Drug Delivery Systems In The Transport Of Doxorubicin. *Jurnal Surface Innovations* Volume 2 (I4)
- Mosman, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method*, 16(1-2): 55-63.
- Mukharomah, Siti. 2019. Potensi Senyawa Asetogenin dari Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) yang diembankan pada Zeolit NaX sebagai Senyawa Antikanker Payudara T47D. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Nisa, F. Z., Astuti, M., Haryana, S. M., dan Murdiati, A. 2016. Efek Kombinasi Doxorubicin dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Sel Payudara Pada Tikus Sprague Dawley yang Diinduksi DMBA (7,12-Dimethylbenzene(a)ntrazena). *Jurnal Nutrisia*, Vol. 18 (2)
- Omidirad, Reyhan., Rajabi, F. H. P., dan Farahani, B. V. 2013. Preparation and *in vitro* drug delivery response of doxorubicinloaded poly(acrylic acid)-coated magnetite nanoparticles. *J. Serb. Chem. Soc.* 78 (10): 1609–1616

- Putra, I Made Wisnu Adhi dan Mustika, I Gede. 2016. Potensi Zat Aktif Antikanker Solasodin Terenkapsulasi Pada Zeolit Klinoptilolit Sebagai Sistem Pengantar Obat (*Drug Delivery System*). *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*; Vol 4
- Rahmatika, Faby Sela. Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus percia* (L) Batsch) terhadap Sel T47D secara *In vitro*. 2019. *Skripsi*. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran UIN MALANG
- Rahmawati, Emma. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak N-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens Balsamina* Linn) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Media Farmasi*, Vol 10 No.2
- Rimoli, M. G., Rabaioli, M. R., Melisi, D., Curcio, A., Mondello, S., Mirabelli, R dan Abignente, E. 2007. Synthetic zeolites as a new tool for drug delivery. *Wiley Periodicals, Inc.*
- Schubert, U. 2012. *Sol-Gel Chemistry and Methode*. VCH-Willey Verlag GmbH. ISBN: 3-527-32714-1
- Setiawati A., Susidarti, R. A., dan Meiyanto, E. 2011. Peningkatan Efek Sitotoksik Doxorubicin Oleh Hesperidin Pada Sel T47D. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. Vol. 13 (2): ISSN 1411 – 0903
- Shihab, M Quraish. 2002. *Tafsir Al Misbah*. Jakarta: Lentera Hati
- Socrates, George. 2004. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies*. New York: John Wiley and Sons, Ltd.
- Spanakis, M., Bouropoulos, N., Theodoropoulos, D., Sygellou, L., Ewart, S., Moschovi, A. M., Siokou, A., Niopas, I., Kachrimanis, K., Nikolakis, V., Cox, P.A., Vizirianakis, I.S., dan Fatouros, D. G. 2013. Controlled Release of 5-Fluorouracil from Microporous Zeolites. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 1–9
- Sudiyono, Dinda Atikah. 2016. Sintesis dan Karakterisasi Zeolit NaY sebagai Pengembangan Senyawa Antikanker Hasil Ekstrak Etanol Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Tacar, Oktay., Srimorsnsak, P., dan Dass, C. R. 2012. Doxorubicin: an Update On Anticancer Molecular Action, Toxicity and Novel Drug Delivery Systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 65, pp. 157–170
- Thammavong, S. 2003. Studies of Synthesis, Kinetics and Particle Size of Zeolite X from Narathiwat Kaolin. *Thesis*. Laos: Suranaree University of Technology.

- Treacy, M.M.J. dan Higgins, J.B. 2001. *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolites*. Amsterdam: Elseiver.
- Villaca, N., Amorim, R., Martinho, O., Reis, R. M., Baltazar, F., Fonseca, A. M, dan Neves, I. C. 2011. encapsulation of a-cyano-4-hydroxyciannamic Acid into a NaY Zeolite. *Journal Mater Sci*, 46:7511-7516.
- Vilaca, N., Amorim, R., Machado, A. F., Parpot, P., Pereira, M. F. R., Sardo, M., Rocha, J., Fonseca, A. M., Neves, I. C., dan Baltazar, F. 2013. Potentiation of 5-Fluorouracil Encapsulated in Zeolites as Drug Delivery Systems for In Vitro Models of Colorectal Carcinoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112: 237-244.
- Wen, Xi., Yang, F., Ke, Q., Xie, X., dan Guo, Y. 2017. Hollow Mesoporous ZSM-5 Zeolites/Chitosan Ellipsoids Loaded with Doxorubicin as pH-responsive Drug Delivery System Against Osteosarcoma. *Journal of Materials Chemistry B*, 00,1-3
- Winarno, Eko. 2011. Uji Sitotoksik Ekstrak Kapang *Aspergillus sp.* terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UI.
- Winarti, Lina. 2013. Sistem Penghantaran Obat Tertarget, Macam, Jenis-Jenis Sistem Penghantaran, dan Aplikasinya. *Jurnal Stomatognatic (J. K. G Unej)* Vol. 10 (2)
- Yabbarov, N. G., Posypanova, G. A., Vorontsov, E. A., Pupova, O. N dan Severin, E. S. 2013. Targeted Delivery of Doxorubicin: Drug Delivery System Based on PAMAM Dendrimers. *Article in Biochemistry (Moscow)*. Vol. 78, (8): 1128-1140
- Zairisman, Syarifah Zarina. 2006. Potensi Imunomodulator Bubuk Kakao Bebas Lemak Sebagai Produk Substandar Secara *In Vitro* Pada Sel Limfosit Manusia. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.

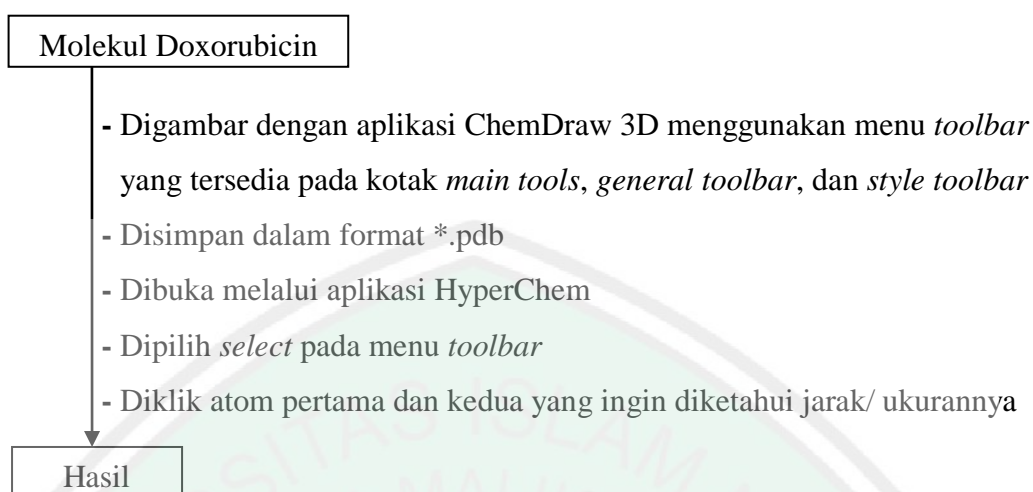
LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian

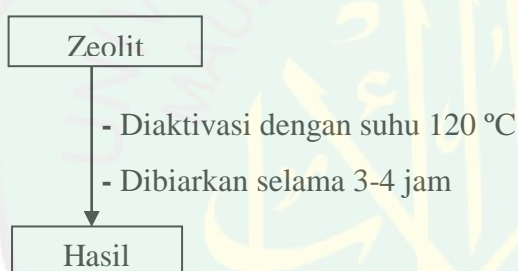


Lampiran 2. Skema Kerja

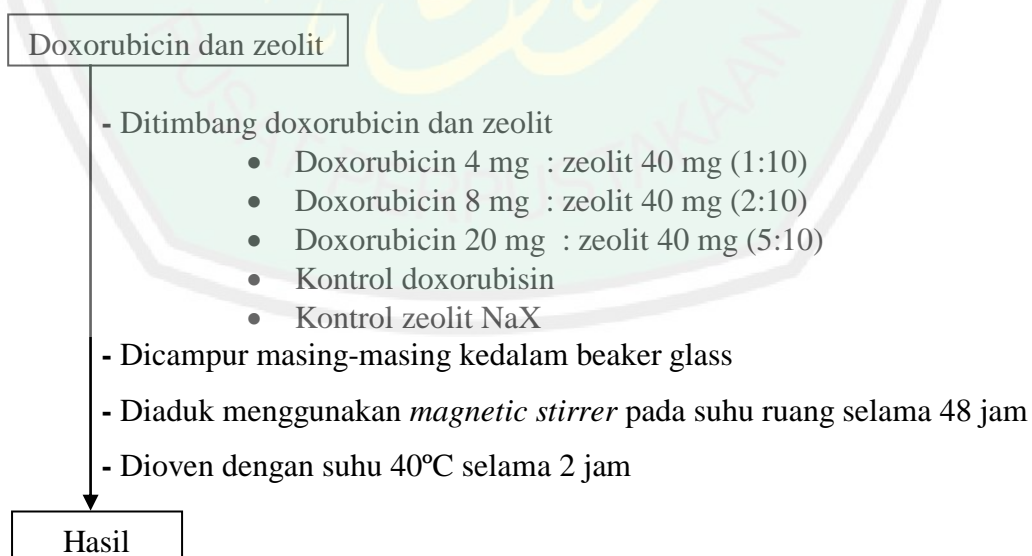
L.2.1 Pengukuran Molekul Doxorubicin Menggunakan Aplikasi HyperChem



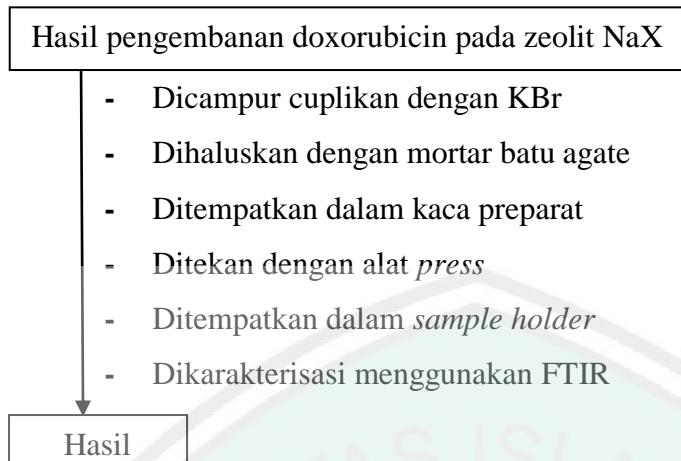
L.2.2 Preparasi Sampel



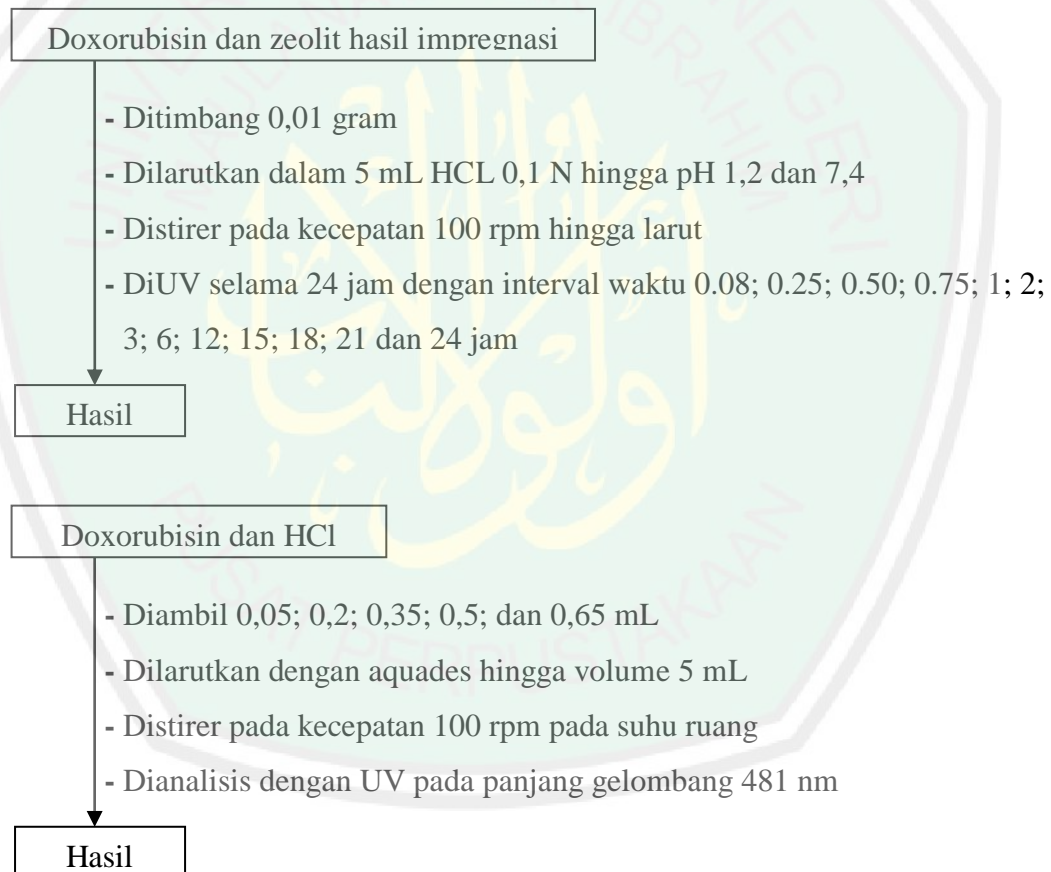
L.2.3 Pengembunan doxorubicin pada zeolit NaX



L.2.4 Karakterisasi Hasil Pengembanan Menggunakan FTIR

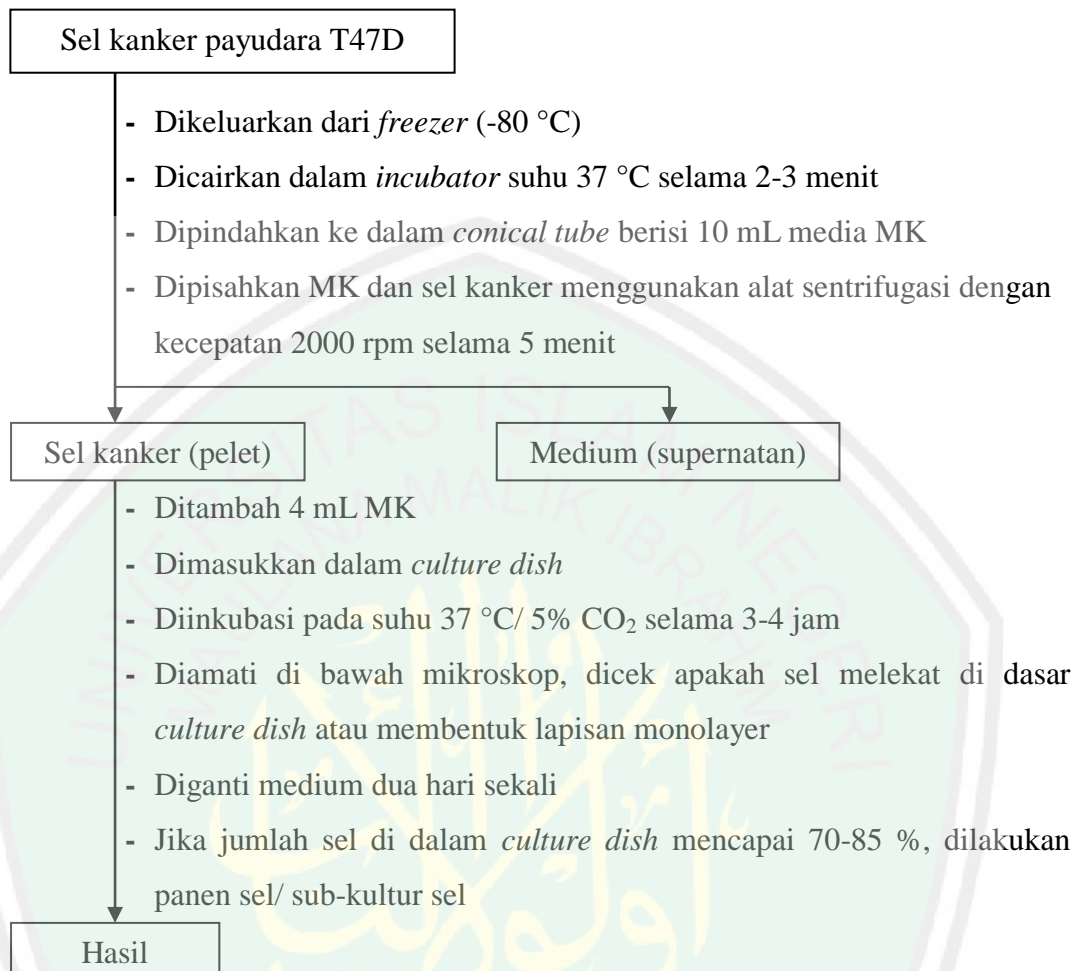


L.2.5 Analisis Laju Pelepasan Obat



L.2.6. Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

L.2.6.1 Kultur Sel



L.2.6.2 Panen Sel

Sel kanker T47D dalam *culture dish*

- Dibuang medium
- Ditambah ± 5 mL PBS
- Dihomogenkan
- Dibuang kembali
- Ditambahkan ± 300 - 500 μ L trypsin-EDTA
- Diinkubasi selama 5 menit dalam *incubator* suhu 37 °C/ 5% CO_2
- Diamati di bawah mikroskop
- Jika sel masih menempel pada *culture dish*, waktu inkubasi ditambah (maksimal total 10 menit)
- Jika sel telah lepas dari dasar *culture dish*, ditambahkan minimal 5 mL MK
- Dihomogenisasi dengan mikropipet
- Dimasukkan dalam *conical tube*
- Diinkubasi selama 24 jam dalam *incubator* suhu 37 °C/ 5% CO_2

Hasil

L.2.6.3 Penghitungan sel kanker

Suspensi sel kanker payudara T47D

- Diambil sebanyak 10 μ L
- Dimasukkan dalam Hemacytometer
- Dilakukan penghitungan sel di bawah mikroskop *inverted*
- Dihitung jumlah sel menggunakan Persamaan 3.3

Hasil

L.2.6.4 Peletakan Sel pada Plat

Suspensi sel kanker payudara T47D

- Diambil sebanyak jumlah yang dibutuhkan (dihitung menggunakan Persamaan 3.4)
- dimasukkan dalam *conical tube*
- Ditambahkan medium MK hingga total volume 10 mL
- dihomogenkan
- Dimasukkan ke dalam plat uji masing-masing sumuran sebanyak 100 μL , kecuali sumuran kontrol sel dan kontrol medium
- Diinkubasi pada suhu 37 °C, 5% CO₂ selama 24 jam

Hasil

L.2.6.5 Pembuatan Larutan Uji

Sampel hasil pengembangan, zeolit NaX dan doxorubicin

- Ditimbang sebanyak 10 mg
- Dilarutkan dalam 300 μL DMSO
- Dihomogenkan menggunakan *vortex* hingga larut

Hasil

Larutan stok sampel 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$

- Ditambahkan sampel 2,4 μL
- Diresuspensi
- Dilakukan pengenceran secara bertingkat dengan memindahkan 400 μL larutan uji dari tabung pertama ke tabung selanjutnya sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 dan 1,5625 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Hasil

L.2.6.6 Peletakan Larutan Uji

Plat uji berisi sel kanker

- Diambil dari *incubator*
- Dibuang media sel dengan cara dibalik 180°
- Dibagi sel uji menjadi 4 bagian menggunakan spidol di atas penutup plat
- Dimasukkan sampel uji sebanyak 100 μL pada tiap sumuran dari masing-masing konsentrasi
- Diulang sebanyak 3 \times (triplo)
- Diinkubasi selama 24 jam dalam *incubator* suhu 37 °C/ CO₂ 5%

Hasil

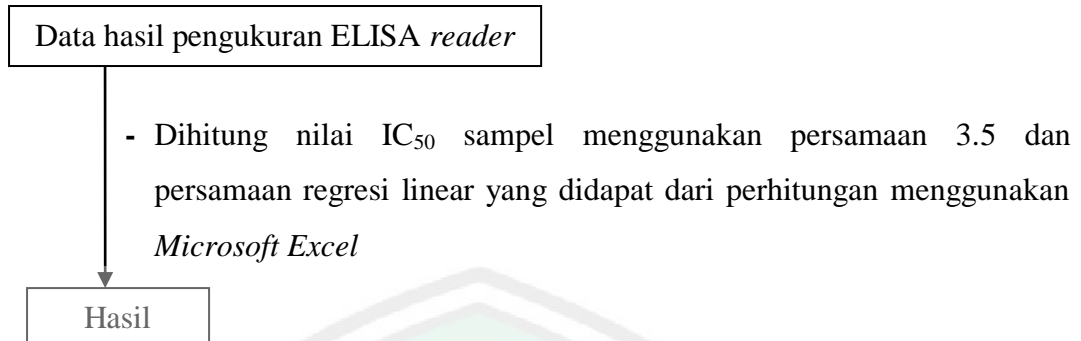
L.2.6.7 Peletakan Larutan MTT

Plat hasil uji

- dibuang media sel
- Dicuci dengan PBS pada tiap sumuran 100 μL
- Dibuang PBS dengan cara dibalik dan ditiriskan
- Ditambah MTT sebanyak 100 μL
- Diencerkan dalam MK 10 mL
- Dimasukkan 100 μL pada tiap sumuran
- Diinkubasi selama 3-4 jam dalam *incubator* suhu 37 °C/ CO₂ 5%
- Ditambahkan 100 μL SDS 10 % 0,01 N HCl pada tiap sumuran
- Dibungkus *plate* dengan *aluminium foil*
- Diinkubasi pada *incubator* gelap suhu 37 °C/ CO₂ 5% selama 24 jam
- Diukur serapan sampel menggunakan *ELISA Reader* pada λ 595 nm

Hasil

L.2.6.8 Analisis Data



Lampiran 3: Perhitungan dan Cara Pembuatan Larutan

L.3.1 Pembuatan Larutan SDS 10%

$$\text{SDS 10\%} = \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang 10 gram SDS (*Sodium Deodecyl Sulphate*) dan dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL, lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades.

L.3.2. Pembuatan Larutan Stok MTT (5 mg/mL) (CCRC, 2009)

Ditimbang 10 mg (5 mL) doxorubicin MTT, kemudian dilarutkan dalam 10 mL PBS dan diaduk dengan *vortex*.

L.3.3 Preparasi Sampel

- Sampel ditimbang = 10 mg
- DMSO = 300 μL = 0,3 mL

$$\begin{aligned} \frac{10 \text{ mg}}{0,3 \text{ mL}} &= 33,3333 \text{ mg/mL} \\ &= 33.333,3 \text{ } \mu\text{g/mL} \\ &= 33.333,3 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah sampel berupa doxorubicin ditimbang 10 mg *vortex* (5 mL), kemudian diencerkan dengan 300 μL pelarut DMSO. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan.

L.3.4 Pengenceran Sampel Konsentrasi 100 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 33.333,3 \text{ ppm} \times V_1 &= 100 \text{ ppm} \times 0,8 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{100 \text{ ppm} \times 0,8 \text{ mL}}{33.333,3 \text{ ppm}} \\ &= 0,0024 \text{ mL} \\ &= 2,4 \text{ } \mu\text{L} \end{aligned}$$

Larutan 100 ppm dibuat dengan mengambil 10 μL doxorubicin yang telah dilarutkan dengan 300 μL DMSO menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam 800 μL MK dan diresuspensi hingga homogen.

L.3.5 Pengenceran DOX Konsentrasi 100 ppm

- Konsentrasi DOX = 50 mg/25 mL
 = 50 mg/ 0,025 Liter
 = 2000 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 0,8 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} \times 0,8 \text{ mL}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$= 0,04 \text{ mL}$$

$$= 40 \mu\text{L}$$

L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 1 M (b/b)

$$\text{Konsentrasi HCl} = 37\%$$

$$\text{Berat jenis HCl pekat} = 1,19 \text{ g/ml} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Berat Molekul} = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$37\% = \frac{37 \text{ gr HCl}}{100 \text{ gr larutan}}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}}$$

$$= \frac{37 \text{ gr}}{36,5 \text{ gr/mol}}$$

$$= 1,0137 \text{ mol}$$

$$\rho = \frac{\text{masaa larutan}}{\text{volume}}$$

$$V = \frac{100 \text{ gr}}{1,19 \text{ gr/mL}} = 84,03 \text{ mL}$$

$$M = \frac{n}{V}$$

$$= \frac{1,0137 \text{ mol}}{84,03 \text{ mL}}$$

$$= \frac{1,0137 \text{ mol}}{8,403 \times 10^{-2} \text{ L}}$$

$$= 12,064 \text{ mol/L}$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$12,064 \text{ mol/L} \times V_1 = 1 \text{ mol/L} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL}}{12,064}$$

$$V_1 = 8,28 \text{ mL}$$

Cara membuat 100 mL HCl 1 M adalah dimasukkan aquades 5 mL lalu diambil larutan HCl 37% sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

L.3.7 Pembuatan Larutan Buffer pH 7,2 200 mL

- NaH_2PO_4 sebagai asam $M_r = 138$ $M = 0,1$
- Na_2HPO_4 sebagai basa $M_r = 142$ $M = 0,1$

$$M = \frac{gr}{Mr} = \frac{1000}{V}$$

Asam

$$0,1 = \frac{gr}{138} = \frac{1000}{200}$$

$$13,8 = gr \times 5$$

$$gr = \frac{13,8}{5}$$

$$gr = 2,76$$

Basa

$$0,1 = \frac{gr}{142} = \frac{1000}{200}$$

$$14,2 = gr \times 5$$

$$gr = \frac{14,2}{5}$$

$$gr = 2,84$$

Cara membuat 200 mL NaH_2PO_4 0,1 M adalah dimasukkan 2,76 gram dalam *beaker glass* 200 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan diaduk hingga homogen.

Lampiran 4. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan

L.4.1 Perhitungan % Efisiensi Pengembanan

$$\% \text{ Efisiensi} = \frac{\text{Dox in zeolit} - \text{free dox}}{\text{Dox in zeolit}} \times 100\%$$

Massa Pengemban = 40 mg

Massa Hasil Pengembanan sampel 1:10 = 60,3 mg

2:10 = 78,8

5:10 = 144,2

- **Sampel 1:10**

$$\frac{60,3-40}{60,3} \times 100\% = 33,66 \%$$

- **Sampel 2:10**

$$\frac{78,8-40}{78,8} \times 100\% = 49,24 \%$$

- **Sampel 5:10**

$$\frac{144,2-40}{144,2} \times 100\% = 72,26 \%$$

L.4.2 Data dan Perhitungan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Payudara (T47D)

a) Perhitungan jumlah sel dengan *hemacytometer* dibawah mikroskop *interved*

Kuadran A 205	Kuadran B 193
Kuadran C 199	Kuadran D 188

$$= \frac{\sum \text{sel kuadran A} + \sum \text{sel kuadran B} + \sum \text{sel kuadran C} + \sum \text{sel kuadran D}}{4} \times 10^4$$

$$= \frac{205+193+199+188}{4} \times 10^4$$

$$= 196 \times 10^4 \text{ sel/mL}$$

b) Peletakan jumlah sel pada plat

$$= \frac{\text{jumlah total sel yang digunakan}}{\text{jumlah sl terhitung}}$$

$$= \frac{100 \times 10^4}{196 \times 10^4 / \text{mL}}$$

$$= 0,510 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$$

Setiap sumuran pada plat uji 96-well akan diisi 100 μL larutan MK yang berisi sel. Volume total diperlukan untuk menanam sel pada plat uji yaitu sebanyak 100 μL x 100 sumuran = 10000 μL atau 10 mL (berisi MK 9,5 ml dan sel 0,5 mL).

c) Perhitungan persen sel hidup

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{(A-B)}{(C-B)} \times 100 \%$$

Keterangan A= Absorbansi sampel (sel+ media kultur + sampel)

B = Absorbansi kontrol media (media kultur)

C = Absorbansi kontrol sel (sel + media kultur)

	Absorbansi sampel variasi				Rata-rata	% Sel hidup
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
Kontrol sel	0,753	0,697	0,731		0,727	100
Kontrol medium	0,098	0,097	0,097	0,0107	0,075675	0

	Absorbansi Doxorubicin dan zeolit						Rata-rata	% Sel hidup
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3					
Kontrol sel	0,663	0,627	0,636				0,642	100
Kontrol medium	0,088	0,091	0,094	0,092	0,097	0,099	0,091	0

1. Variasi doxorubicin:zeolit NaX (1:10)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata2 Abs	% sel hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
100	0,69	0,674	0,686	0,683333	93,2957177
50	0,618	0,641	0,563	0,607333	81,62719584
25	0,594	0,663	0,711	0,656	89,09914405
12,5	0,453	0,591	0,578	0,540667	71,39165035
6,25	1,218	0,438	0,52	0,725333	99,74411136
3,125	0,19	0,193	0,228	0,203667	19,6509679
1,5625	0,161	0,156	0,147	0,154667	12,12784196

• Perhitungan persen sel hidup

- 100 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,683333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100 \% = 93,2957177 \%$
- 50 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,607333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 81,62719584 \%$
- 25 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,656-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 89,09914405 \%$
- 12,5ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,540667-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 71,39165035\%$
- 6,25 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,725333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 99,74411136 \%$
- 3,125 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,203667-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 19,6509679 \%$
- 1,6525 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,154667-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 12,12784196\%$

2. Variasi doxorubicin:zeolit NaX (2:10)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata2 Abs	%sel hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
100	0,669	0,7	0,68	0,683	93,24453998
50	0,587	0,673	0,601	0,620333	83,62312722
25	0,733	0,598	0,766	0,699	95,70107089
12,5	0,581	0,61	0,626	0,605667	81,37130721
6,25	0,554	0,561	0,656	0,590333	79,01713174
3,125	0,173	0,336	0,259	0,256	27,68587111
1,5625	0,145	0,143	0,19	0,159333	12,84433015

• Perhitungan persen sel hidup

- 100 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,683-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100 \% = 93,24453998 \%$

- 50 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,620333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 83,62312722\%$
- 25 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,699-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 95,70107089\%$
- 12,5 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,605667-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 81,37130721\%$
- 6,25 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,590333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 79,01713174\%$
- 3,125 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,256-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 27,68587111 \%$
- 1,6525 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,159333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\% = 12,84433015\%$

3. Variasi doxorubicin:zeolit NaX (5:10)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata2 Abs	%sel hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
100	0,637	0,642	0,65	0,643	87,10321268
50	0,727	0,713	0,719	0,719667	98,87409
25	0,671	0,723	0,691	0,695	95,08693816
12,5	0,641	0,673	0,741	0,685	93,55160634
6,25	0,293	0,607	0,581	0,493667	64,17559078
3,125	0,173	0,159	0,176	0,169333	14,37966197
1,5625	0,375	0,4	0,393	0,389333	48,15696209

• Perhitungan persen sel hidup

- 100 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,643-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100 \%$ = 87,10321268%
- 50 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,719667-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\%$ = 98,87409%
- 25 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,695-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\%$ = 95,08693816%
- 12,5 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,685-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\%$ = 93,55160634%
- 6,25 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,493667-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\%$ = 64,17559078%
- 3,125 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,169333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\%$ = 14,37966197 %
- 1,6525 ppm \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,389333-0,075675}{0,727-0,075675} \times 100\%$ = 48,15696209%

4. Zeolit NaX

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata2 Abs	%sel hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
100	0,375	0,391	0,425	0,397	55,5353902
50	0,395	0,417	0,409	0,407	57,35027223
25	0,412	0,394	0,411	0,405666667	57,10828796
12,5	0,361	0,376	0,385	0,374	51,36116152
6,25	0,329	0,33	0,323	0,327333333	42,89171204
3,125	0,316	0,316	0,308	0,313333333	40,35087719
1,5625	0,24	0,261	0,26	0,253666667	29,52208106

- Perhitungan persen sel hidup

- 100 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,397-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 55,5353902\%$
- 50 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,407-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 57,35027223\%$
- 25 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,40567-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 57,10828796\%$
- 12,5 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,374-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 51,36116152\%$
- 6,25 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,3273-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 42,89171204\%$
- 3,125 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,313-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 40,35087719\%$
- 1,5625 ppm \rightarrow % Sel hidup = $\frac{0,25367-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 29,52208106\%$

5. Standar Doxorubicin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata2 Abs	%sel hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
100	0,655	0,664	0,632	0,65033	101,5124017
50	0,688	0,615	0,653	0,652	101,814882
25	0,714	0,711	0,7	0,70833	112,0387175
12,5	0,671	0,669	0,695	0,67833	106,5940714
6,25	0,64	0,652	0,707	0,66633	104,4162129
3,125	0,663	0,65	0,665	0,65933	103,1457955
1,5625	0,47	0,495	0,46	0,475	69,69147005

- Perhitungan persen sel hidup

- 100 ppm → % *Sel hidup* = $\frac{0,65033-0,091}{0,642-0,091} \times 100 \% = 101,5124017\%$
- 50 ppm → % *Sel hidup* = $\frac{0,652-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 101,814882\%$
- 25 ppm → % *Sel hidup* = $\frac{0,70833-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 112,0387175\%$
- 12,5 ppm → % *Sel hidup* = $\frac{0,67833-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 106,5940714\%$
- 6,25 ppm → % *Sel hidup* = $\frac{0,66633-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 104,4162129\%$
- 3,125 ppm → % *Sel hidup* = $\frac{0,65933-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 103,1457955\%$
- 1,5625 ppm → % *Sel hidup* = $\frac{0,475-0,091}{0,642-0,091} \times 100\% = 69,69147005\%$



d) Hasil Perhitungan IC₅₀ dengan SPSS

- Variasi doxorubicin:zeolit NaX (1:10)

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	0.106	0	1.072	-0.976	-32.069	0.03
0.02	0.166	0	1.377	-0.78	-28.736	0.139
0.03	0.221	0	1.618	-0.656	-26.623	0.209
0.04	0.274	0	1.829	-0.563	-25.034	0.262
0.05	0.326	0	2.023	-0.487	-23.742	0.306
0.06	0.378	0	2.206	-0.422	-22.642	0.344
0.07	0.431	0	2.383	-0.366	-21.679	0.377
0.08	0.484	0	2.554	-0.315	-20.816	0.407
0.09	0.539	0	2.723	-0.269	-20.032	0.435
0.1	0.594	0	2.89	-0.226	-19.311	0.461
0.15	0.891	0	3.726	-0.05	-16.327	0.571
0.2	1.229	0	4.62	0.089	-13.961	0.665
0.25	1.62	0	5.635	0.209	-11.938	0.751
0.3	2.075	0	6.851	0.317	-10.128	0.836
0.35	2.612	0	8.4	0.417	-8.461	0.924
0.4	3.248	0	10.528	0.512	-6.893	1.022
0.45	4.011	0	13.773	0.603	-5.398	1.139
0.5	4.936	0	19.568	0.693	-3.965	1.292
0.55	6.075	0.002	32.867	0.784	-2.604	1.517
0.6	7.502	0.042	79.41	0.875	-1.375	1.9
0.65	9.33	0.386	401.597	0.97	-0.413	2.604
0.7	11.741	1.55	5701.648	1.07	0.19	3.756
0.75	15.045	3.436	201770.769	1.177	0.536	5.305
0.8	19.83	5.732	1.56E+07	1.297	0.758	7.192
0.85	27.36	8.511	3.02E+09	1.437	0.93	9.48
0.9	41.02	12.312	2.59E+12	1.613	1.09	12.413
0.91	45.235	13.307	1.34E+13	1.655	1.124	13.127
0.92	50.307	14.432	8.01E+13	1.702	1.159	13.904
0.93	56.542	15.725	5.74E+14	1.752	1.197	14.759
0.94	64.424	17.246	5.20E+15	1.809	1.237	15.716
0.95	74.763	19.092	6.44E+16	1.874	1.281	16.809
0.96	89.049	21.427	1.24E+18	1.95	1.331	18.095
0.97	110.405	24.577	4.76E+19	2.043	1.391	19.677
0.98	146.924	29.31	6.08E+21	2.167	1.467	21.784
0.99	230.516	38.295	1.29E+25	2.363	1.583	25.109

- Variasi doxorubicin:zeolit NaX (2:10)

PROBIT _a	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) _b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	0.133	0	0.801	-0.875	-4.674	-0.096
0.02	0.203	0	1.042	-0.692	-4.118	0.018
0.03	0.265	0	1.234	-0.577	-3.766	0.091
0.04	0.324	0	1.403	-0.49	-3.501	0.147
0.05	0.381	0.001	1.558	-0.419	-3.287	0.193
0.06	0.438	0.001	1.705	-0.359	-3.104	0.232
0.07	0.495	0.001	1.846	-0.306	-2.944	0.266
0.08	0.552	0.002	1.983	-0.258	-2.801	0.297
0.09	0.609	0.002	2.117	-0.215	-2.672	0.326
0.1	0.667	0.003	2.25	-0.176	-2.552	0.352
0.15	0.973	0.009	2.908	-0.012	-2.061	0.464
0.2	1.313	0.021	3.594	0.118	-1.674	0.556
0.25	1.699	0.045	4.345	0.23	-1.345	0.638
0.3	2.141	0.088	5.201	0.331	-1.054	0.716
0.35	2.652	0.163	6.211	0.424	-0.789	0.793
0.4	3.25	0.286	7.451	0.512	-0.543	0.872
0.45	3.956	0.486	9.044	0.597	-0.313	0.956
0.5	4.801	0.8	11.204	0.681	-0.097	1.049
0.55	5.826	1.274	14.327	0.765	0.105	1.156
0.6	7.092	1.962	19.177	0.851	0.293	1.283
0.65	8.69	2.908	27.322	0.939	0.464	1.437
0.7	10.765	4.144	42.159	1.032	0.617	1.625
0.75	13.564	5.702	71.695	1.132	0.756	1.855
0.8	17.546	7.667	137.413	1.244	0.885	2.138
0.85	23.685	10.265	309.399	1.374	1.011	2.491
0.9	34.546	14.106	902.519	1.538	1.149	2.955
0.91	37.844	15.149	1175.163	1.578	1.18	3.07
0.92	41.784	16.342	1568.222	1.621	1.213	3.195
0.93	46.591	17.729	2157.697	1.668	1.249	3.334
0.94	52.617	19.38	3087.549	1.721	1.287	3.49
0.95	60.447	21.406	4656.18	1.781	1.331	3.668
0.96	71.147	24	7563.07	1.852	1.38	3.879
0.97	86.93	27.543	13770.82	1.939	1.44	4.139
0.98	113.46	32.946	30664.99	2.055	1.518	4.487
0.99	172.646	43.4	109030.2	2.237	1.637	5.038

- Variasi doxorubicin:zeolit NaX (5:10)

Probability	Estimate	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b	
		Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	0.055	0	0.754	-1.263	-1123.58	-0.122
0.02	0.088	0	0.977	-1.054	-1013.73	-0.01
0.03	0.12	0	1.154	-0.921	-944.039	0.062
0.04	0.151	0	1.31	-0.821	-891.611	0.117
0.05	0.182	0	1.453	-0.74	-848.967	0.162
0.06	0.214	0	1.589	-0.671	-812.669	0.201
0.07	0.246	0	1.72	-0.61	-780.844	0.235
0.08	0.278	0	1.847	-0.556	-752.349	0.266
0.09	0.312	0	1.972	-0.506	-726.434	0.295
0.1	0.346	0	2.096	-0.461	-702.579	0.321
0.15	0.534	0	2.716	-0.272	-603.817	0.434
0.2	0.754	0	3.375	-0.123	-525.329	0.528
0.25	1.014	0	4.116	0.006	-457.999	0.614
0.3	1.322	0	4.992	0.121	-397.541	0.698
0.35	1.691	0	6.083	0.228	-341.525	0.784
0.4	2.135	0	7.536	0.329	-288.384	0.877
0.45	2.677	0	9.663	0.428	-236.987	0.985
0.5	3.343	0	13.268	0.524	-186.436	1.123
0.55	4.176	0	21.2	0.621	-135.951	1.326
0.6	5.234	0	52.334	0.719	-84.838	1.719
0.65	6.611	0	1485.535	0.82	-33.057	3.172
0.7	8.455	0.01	1.57E+28	0.927	-1.98	28.197
0.75	11.027	1.106	5.19E+86	1.042	0.044	86.715
0.8	14.821	3.237	#####	1.171	0.51	153.665
0.85	20.921	5.753	#####	1.321	0.76	231.997
0.9	32.281	9.039	.	1.509	0.956	330.676
0.91	35.846	9.886	.	1.554	0.995	354.518
0.92	40.166	10.838	.	1.604	1.035	380.421
0.93	45.52	11.93	.	1.658	1.077	408.906
0.94	52.347	13.212	.	1.719	1.121	440.721
0.95	61.392	14.766	.	1.788	1.169	477.009
0.96	74.035	16.733	.	1.869	1.224	519.645
0.97	93.2	19.389	.	1.969	1.288	572.063
0.98	126.567	23.392	.	2.102	1.369	641.747
0.99	205.019	31.038	.	2.312	1.492	751.583

- Sampel Zeolit NaX

Probability	Estimate	95% Confidence Limits for konsentrasi		95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
		Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	0	0	0.001	-4.836	-8.989	-3.094
0.02	0	0	0.003	-4.122	-7.78	-2.586
0.03	0	0	0.005	-3.67	-7.014	-2.264
0.04	0	0	0.01	-3.329	-6.437	-2.022
0.05	0.001	0	0.015	-3.053	-5.968	-1.824
0.06	0.002	0	0.022	-2.817	-5.569	-1.656
0.07	0.002	0	0.031	-2.61	-5.22	-1.509
0.08	0.004	0	0.042	-2.425	-4.907	-1.377
0.09	0.006	0	0.055	-2.257	-4.622	-1.256
0.1	0.008	0	0.072	-2.102	-4.36	-1.145
0.15	0.035	0.001	0.206	-1.461	-3.277	-0.685
0.2	0.112	0.004	0.482	-0.951	-2.419	-0.317
0.25	0.306	0.021	1.004	-0.514	-1.686	0.002
0.3	0.757	0.093	1.964	-0.121	-1.033	0.293
0.35	1.75	0.366	3.732	0.243	-0.436	0.572
0.4	3.875	1.295	7.153	0.588	0.112	0.854
0.45	8.363	3.992	14.762	0.922	0.601	1.169
0.5	17.829	10.048	36.247	1.251	1.002	1.559
0.55	38.012	20.859	107.91	1.58	1.319	2.033
0.6	82.037	39.483	362.814	1.914	1.596	2.56
0.65	181.684	72.957	1329.764	2.259	1.863	3.124
0.7	419.967	136.309	5343.033	2.623	2.135	3.728
0.75	1037.336	264.313	24264.46	3.016	2.422	4.385
0.8	2839.32	548.162	131895.9	3.453	2.739	5.12
0.85	9181.948	1275.329	954580.6	3.963	3.106	5.98
0.9	40204.96	3671.543	1.16E+07	4.604	3.565	7.064
0.91	57435.95	4737.267	2.12E+07	4.759	3.676	7.326
0.92	84618.67	6247.221	4.08E+07	4.927	3.796	7.61
0.93	1.30E+05	8466.912	8.38E+07	5.113	3.928	7.923
0.94	2.09E+05	11887.8	1.88E+08	5.319	4.075	8.273
0.95	3.59E+05	17501.93	4.70E+08	5.555	4.243	8.672
0.96	6.79E+05	27563.28	1.38E+09	5.832	4.44	9.141
0.97	1.49E+06	48158.94	5.22E+09	6.172	4.683	9.718
0.98	4.21E+06	101073.7	3.05E+10	6.625	5.005	10.485
0.99	2.18E+07	324895.5	4.94E+11	7.338	5.512	11.693

- Sampel Doxorubicin

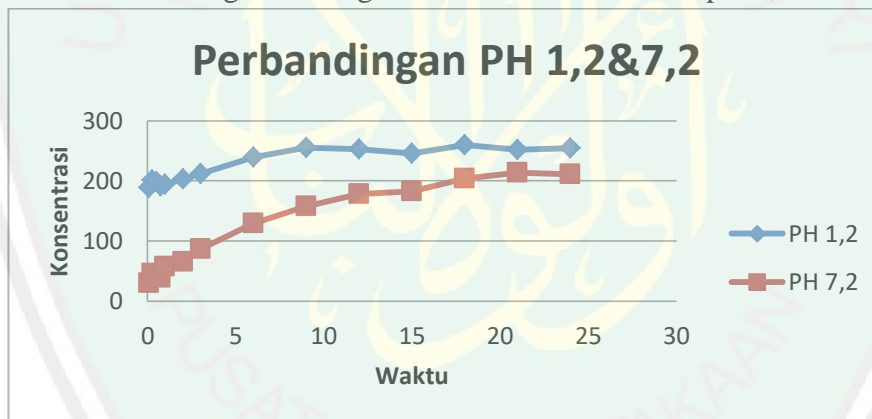
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) _a	
			Upper Bound	Estimate	Lower Bound
0.01	0.291	0.084855	0.498192	-0.53667	-1.07132
0.02	0.34	0.110073	0.558374	-0.46817	-0.95832
0.03			0.600337	-0.4247	-0.88667
0.04	0.406	0.146961	0.634012	-0.39201	-0.8328
0.05	0.431	0.162555	0.662825	-0.36541	-0.789
0.06	0.454	0.177119	0.688405	-0.34277	-0.75174
0.07	0.475	0.190951	0.711667	-0.32292	-0.71908
0.08	0.495	0.204245	0.733183	-0.30515	-0.68985
0.09	0.514	0.217132	0.753334	-0.28899	-0.66328
0.1	0.532	0.229707	0.77239	-0.27411	-0.63883
0.15	0.613	0.289922	0.856793	-0.21251	-0.53772
0.2	0.686	0.348708	0.93078	-0.16355	-0.45754
0.25	0.756	0.408397	0.999713	-0.12155	-0.38892
0.3	0.824	0.470468	1.066387	-0.08383	-0.32747
0.35	0.894	0.536138	1.13264	-0.04888	-0.27072
0.4	0.964	0.606591	1.199937	-0.01572	-0.2171
0.45	1.038	0.683119	1.269661	0.016371	-0.1655
0.5	1.117	0.767225	1.343336	0.04795	-0.11508
0.55	1.201	0.860733	1.422857	0.079529	-0.06513
0.6	1.293	0.965911	1.510854	0.111617	-0.01506
0.65	1.396	1.085571	1.611341	0.144783	0.035658
0.7	1.513	1.223103	1.731036	0.179734	0.087463
0.75	1.65	1.382242	1.88223	0.217452	0.140584
0.8	1.817	1.566593	2.089049	0.259453	0.194956
0.85	2.034	1.781141	2.400817	0.30841	0.250698
0.9	2.344	2.044638	2.928109	0.37001	0.310616
0.91	2.426	2.10799	3.08059	0.384888	0.323869
0.92	2.518	2.177115	3.258129	0.401051	0.337881
0.93	2.623	2.253747	3.468243	0.418823	0.352905
0.94	2.746	2.340428	3.722295	0.438672	0.369295
0.95	2.893	2.441111	4.038563	0.461309	0.387588
0.96	3.075	2.56243	4.449003	0.487905	0.408652
0.97	3.316	2.716878	5.016701	0.520602	0.43407
0.98	3.665	2.93272	5.893027	0.564066	0.467271

L.4.3. Analisis Laju Pelepasan Obat

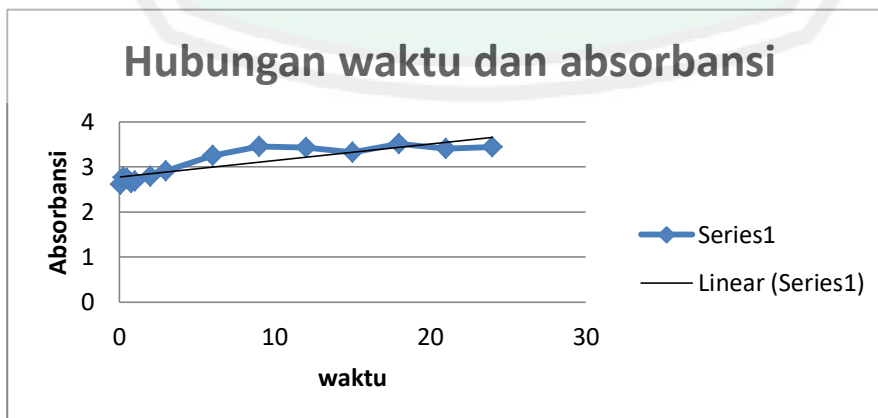
L.4.3.1 Perhitungan Konsentrasi

Waktu (jam)	Absorbansi		Konsentrasi	
	pH 1,2	pH 7,2	pH 1,2	pH 7,2
0,08	2,6176	0,6101	188,9285714	29,6031746
0,25	2,7701	0,8176	201,031746	46,07142857
0,50	2,7418	0,7909	198,7857143	43,95238095
0,75	2,6533	0,7268	191,7619048	38,86507937
1	2,6881	0,9605	194,5238095	57,41269841
2	2,7967	1,0669	203,1428571	65,85714286
3	2,9119	1,3291	212,2857143	86,66666667
6	3,2515	1,8699	239,2380952	129,5873016
9	3,4578	2,2262	255,6111111	157,8650794
12	3,425	2,479	253,0079365	177,9285714
15	3,3291	2,5442	245,3968254	183,1031746
18	3,5078	2,8083	259,5793651	204,0634921
21	3,4063	2,9301	251,5238095	213,7301587
24	3,4453	2,8966	254,6190476	211,0714286

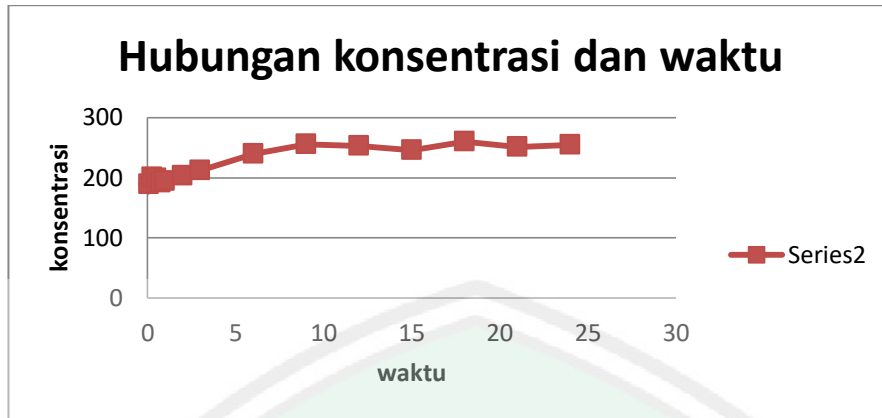
a. Perbandingan hubungan konsentrasi dan waktu pH 1,2 dan 7,2



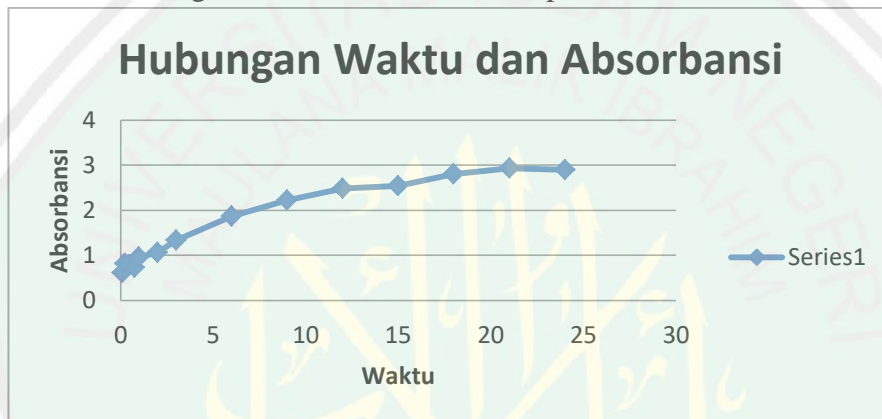
b. Hubungan waktu dan absorbansi pH 1,2



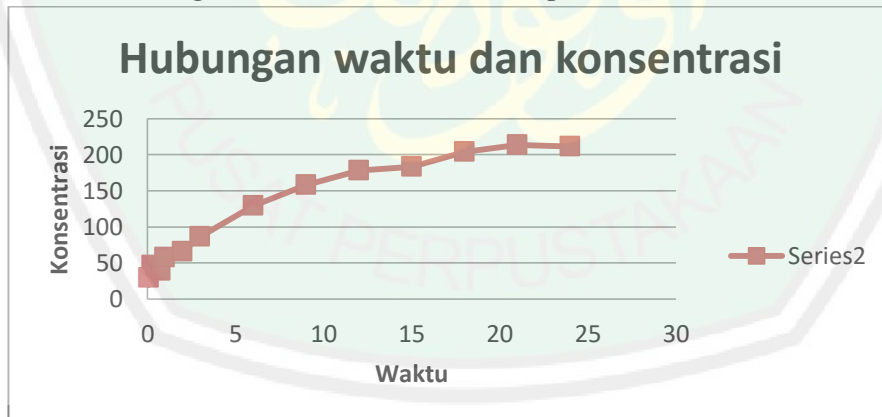
c. Hubungan konsentrasi dan waktu pH 1,2



d. Hubungan Waktu dan Absorbansi pH 7,2



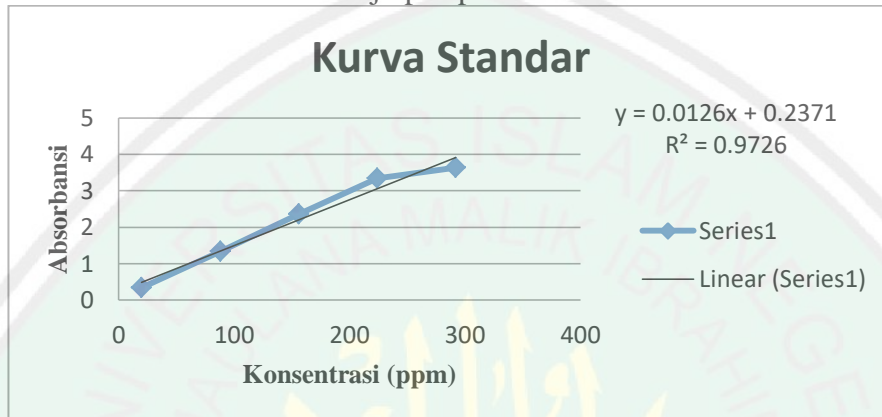
e. Hubungan Waktu dan konsentrasi pH 7,2



L.4.3.2 Kurva Standar

Konsentrasi	Absorbansi
20	0,3459
88	1,3379
156	2,3635
224	3,3407
292	3,6307

- Kurva standar analisis laju pelepasan obat



Untuk menghitung konsentrasi digunakan persamaan $y=ax+b$ dari kurva standar dengan $y=$ absorbansi dan $x =$ konsentrasi, sehingga diperoleh perhitungan konsentrasi sebagai berikut

a) pH 1,2

b) pH 7,2

$$y = ax+b$$

$$x = \frac{y-b}{a}$$

- Waktu 0,08

$$x = \frac{2,6176-0,2371}{0,0126} = 188,9285714$$

$$x = \frac{0,6101-0,2371}{0,0126} = 29,6031746$$

- Waktu 0,25

$$x = \frac{2,7701-0,2371}{0,0126} = 201,031746$$

$$x = \frac{0,8176-0,2371}{0,0126} = 46,07142857$$

- Waktu 0,5

$$x = \frac{2,7701-0,2371}{0,0126} = 198,7857143$$

$$x = \frac{0,7909-0,2371}{0,0126} = 43,95238095$$

- Waktu 0,75

$$x = \frac{2,6533-0,2371}{0,0126} = 191,7619048$$

$$x = \frac{0,7268-0,2371}{0,0126} = 38,86507937$$

- Waktu 1

$$x = \frac{2,6881-0,2371}{0,0126} = 194,5238095$$

$$x = \frac{0,9605-0,2371}{0,0126} = 57,41269841$$

- Waktu 2

$$x = \frac{2,6881-0,2371}{0,0126} = 203,1428571$$

$$x = \frac{1,0669-0,2371}{0,0126} = 65,85714286$$

- Waktu 3

$$x = \frac{2,9119-0,2371}{0,0126} = 212,2857143$$

$$x = \frac{1,3291-0,2371}{0,0126} = 86,66666667$$

- Waktu 6

$$x = \frac{3,2512-0,2371}{0,0126} = 239,2380952$$

$$x = \frac{1,8699-0,2371}{0,0126} = 129,5873016$$

- Waktu 9

$$x = \frac{23,4578-0,2371}{0,0126} = 255,6111111$$

$$x = \frac{2,2262-0,2371}{0,0126} = 157,8650794$$

- Waktu 12

$$x = \frac{3,425-0,2371}{0,0126} = 253,0079365$$

$$x = \frac{2,479-0,2371}{0,0126} = 177,9285714$$

- Waktu 15

$$x = \frac{3,3291-0,2371}{0,0126} = 245,3968254$$

$$x = \frac{2,5442-0,2371}{0,0126} = 183,1031746$$

- Waktu 18

$$x = \frac{3,5078-0,2371}{0,0126} = 259,5793651$$

$$x = \frac{2,8083-0,2371}{0,0126} = 204,0634921$$

- Waktu 21

$$x = \frac{3,4063-0,2371}{0,0126} = 251,5238095$$

$$x = \frac{2,9301-0,2371}{0,0126} = 213,7301587$$

- Waktu 24

$$x = \frac{3,4453-0,2371}{0,0126} = 254,6190476$$

$$x = \frac{2,8966-0,2371}{0,0126} = 211,0714286$$

L.4.3.3 Perhitungan % Drug Release

Waktu (jam)	Konsentrasi		% Drug Release	
	pH 1,2	pH 7,2	pH 1,2	pH 7,2
0,08	188,9285714	188,9285714	9,446428571	1,48015873
0,25	20,031746	201,031746	10,0515873	2,303571429
0,50	198,7857143	198,7857143	9,939285714	2,197619048
0,75	191,7619048	191,7619048	9,588095238	1,943253968
1	194,5238095	194,5238095	9,726190476	2,870634921
2	203,1428571	203,1428571	10,15714286	3,292857143
3	212,2857143	212,2857143	10,61428571	4,333333333
6	239,2380952	239,2380952	11,96190476	6,479365079
9	255,6111111	255,6111111	12,78055556	7,893253968
12	253,0079365	253,0079365	12,65039683	8,896428571
15	245,3968254	245,3968254	12,26984127	9,15515873
18	259,5793651	259,5793651	12,97896825	10,2031746
21	251,5238095	251,5238095	12,57619048	10,68650794
24	254,6190476	254,6190476	12,73095238	10,55357143

Keterangan

= Maksimal

Persentase drug release diperoleh dari persamaan 3.2 yaitu membandingkan konsentrasi doxorubicin yang lepas dari zeolit NaX pada masing-masing waktu dengan konsentrasi doxorubicin yang terembankan yaitu 2000 ppm.

- **Perhitungan Konsentrasi Doxorubicin yang terembankan**

$$\frac{50 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} = \frac{50 \text{ mg}}{0,025 \text{ L}} = 2000 \text{ ppm}$$

- **Perhitungan Persentase Drug Release**

$$\frac{\text{konsentrasi}}{2000} \times 100 \%$$

a) pH 1,2

- Waktu 0,08

$$\frac{188,928}{2000} = 9,446428571\%$$

- Waktu 0,25

b) pH 7,2

$$\frac{29,603}{2000} = 1,48015873\%$$

- $\frac{201,032}{2000}=10,0515873\%$
 $\frac{46,071}{2000}=2,303571429\%$
- Waktu 0,5

$\frac{198,786}{2000}=9,939285714\%$
 $\frac{43,952}{2000}=2,197619048\%$
 - Waktu 0,75

$\frac{191,761}{2000}=9,588095238\%$
 $\frac{38,865}{2000}=1,943253968\%$
 - Waktu 1

$\frac{194,524}{2000}=9,726190476\%$
 $\frac{57,413}{2000}=2,870634921\%$
 - Waktu 2

$\frac{203,143}{2000}=10,15714286\%$
 $\frac{65,857}{2000}=3,292857143\%$
 - Waktu 3

$\frac{212,2286}{2000}=10,61428571\%$
 $\frac{86,67}{2000}=4,33\%$
 - Waktu 6

$\frac{239,238}{2000}=11,96190476\%$
 $\frac{129,587}{2000}=6,479365079\%$
 - Waktu 9

$\frac{255,61}{2000}=12,78055556\%$
 $\frac{157,865}{2000}=7,893253968\%$
 - Waktu 12

$\frac{253,008}{2000}=12,65039683\%$
 $\frac{177,928}{2000}=8,896428571\%$
 - Waktu 15

$\frac{245,397}{2000}=12,26984127\%$
 $\frac{183,103}{2000}=9,15515873\%$
 - Waktu 18

$\frac{259,58}{2000}=12,97896825\%$
 $\frac{204,063}{2000}=10,2031746\%$
 - Waktu 21

$$\frac{251,5232}{2000}=12,57619048\%$$

$$\frac{213,73}{2000}=10,68650794\%$$

- Waktu 24

$$\frac{254,62}{2000}=12,73095238\%$$

$$\frac{211,071}{2000}=10,55357143\%$$



Lampiran 5 Dokumentasi

L.5.1 Proses Impregnasi Doxorubicin pada Zeolit NaX



Zeolit NaX



Pengadukan dengan
Stirer

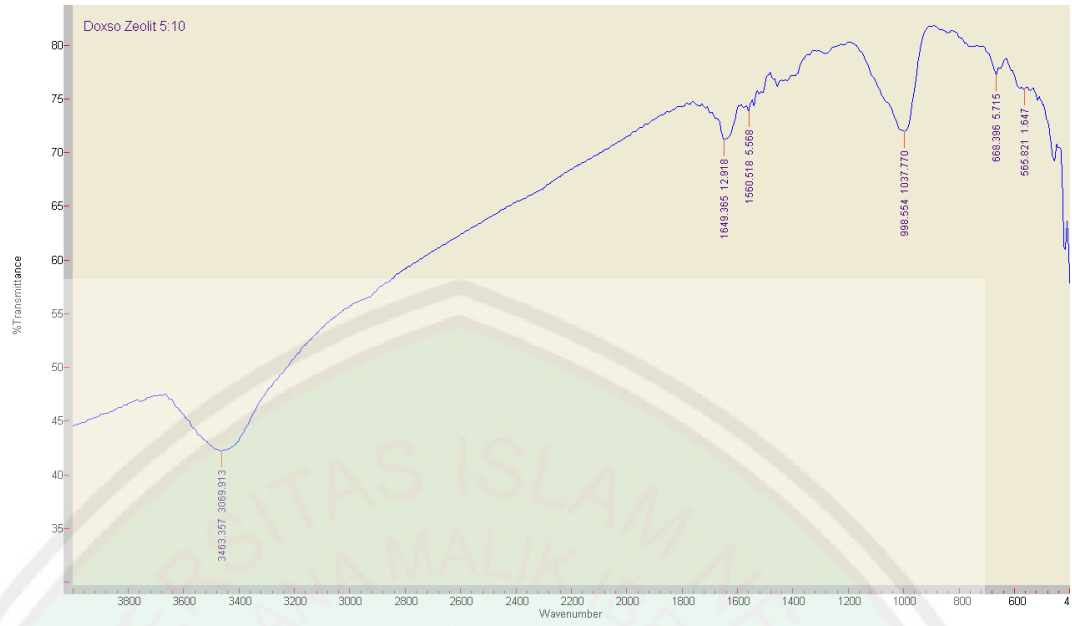


Pengeringan dengan
oven

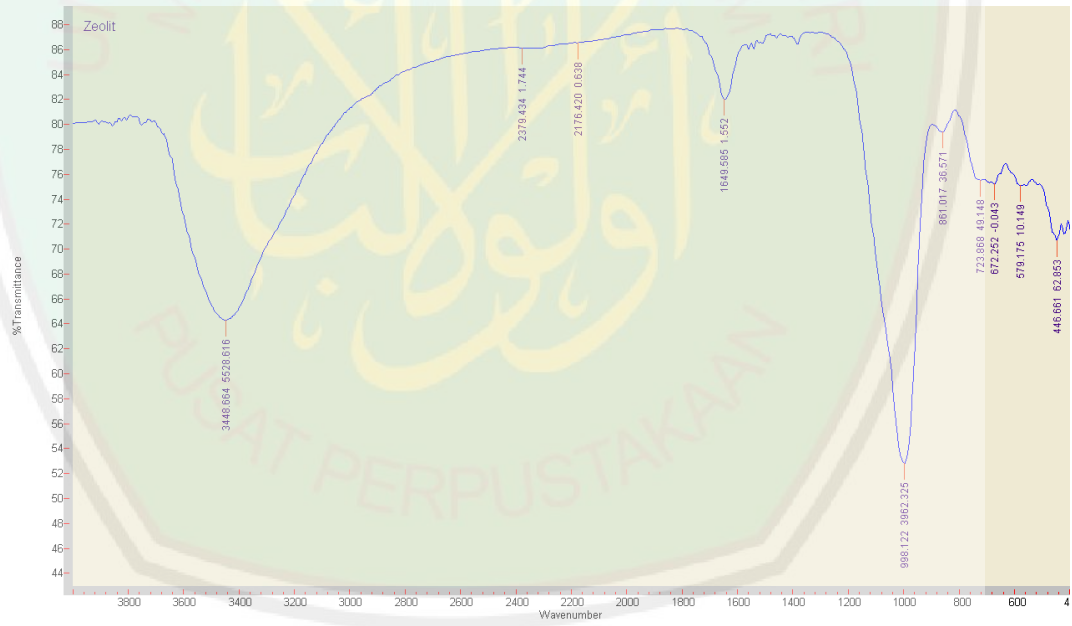


Hasil impregnasi

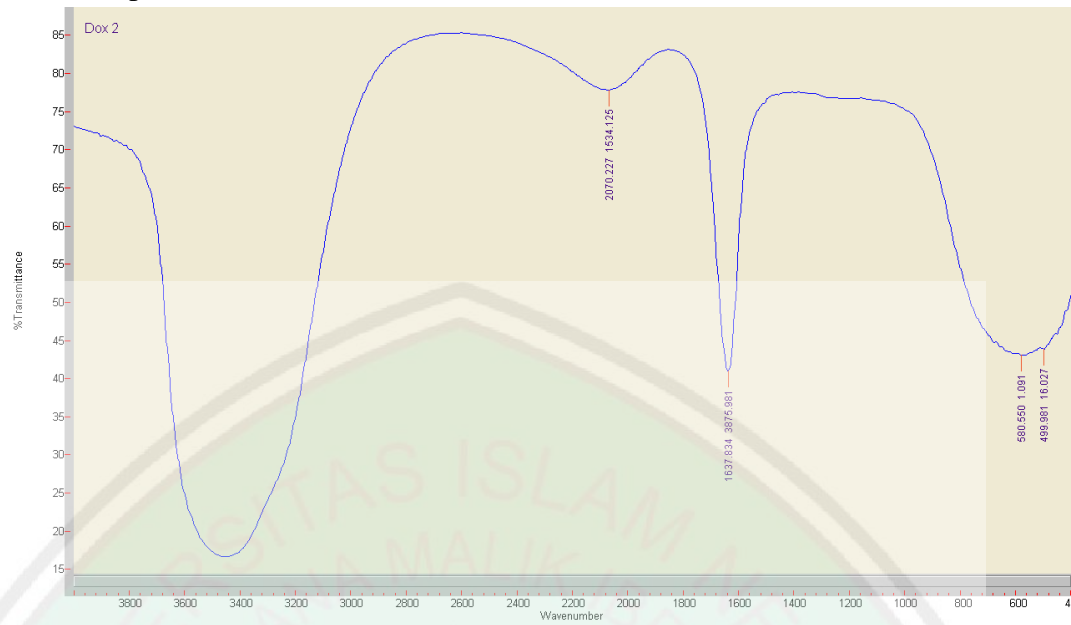
L.5.2.3 Spektra FTIR Doxorubicin:Zeolit (5:10)



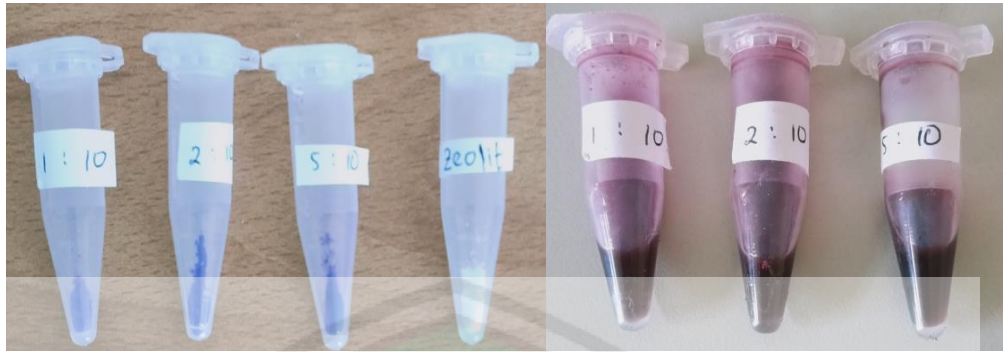
L.5.2.4 Spektra FTIR Zeolit



L.5.2.5 Spektra FTIR Doxorubicin

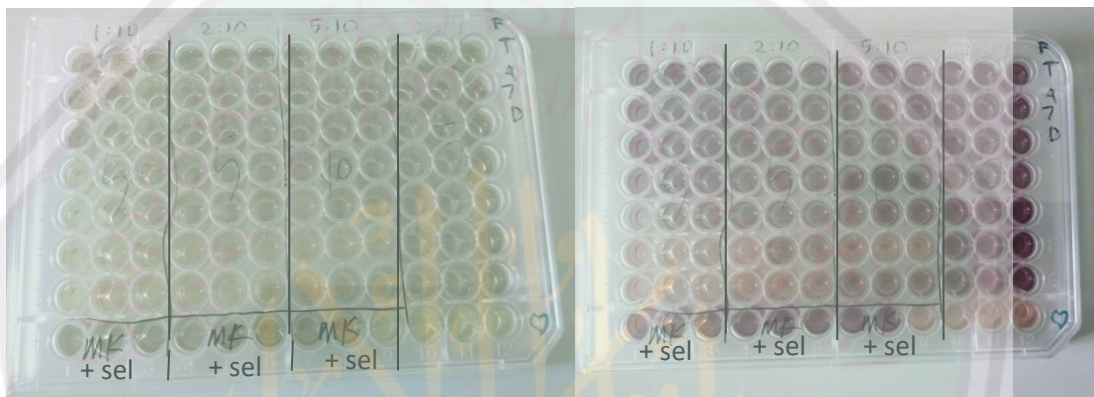


L.5.3 Uji Aktivitas Antikanker menggunakan Metode MTT



Sampel dalam microtesttube

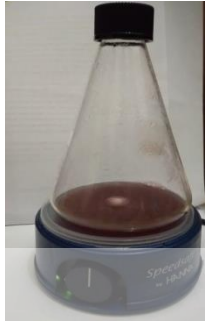
Sampel setelah pemberian DMSO



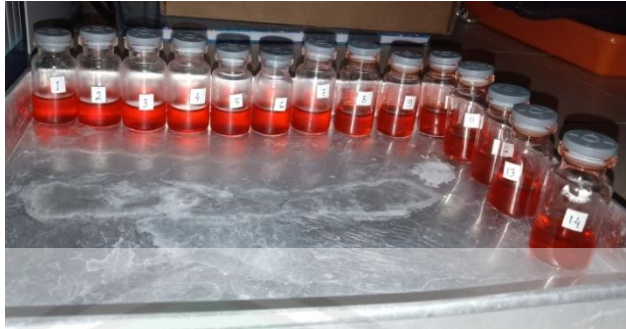
Sel kanker setelah pemberian MTT

Setelah MTT didiamkan selama 24 jam

L.5.4 Uji Pelepasan Obat



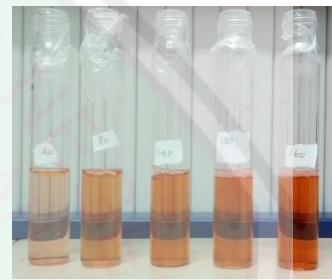
Proses stirer



Hasil cuplikan selama 24 jam PH 1,2



Hasil cuplikan selama 24 jam PH 1,2



Kurva standar