

**AKTIVITAS *DOXORUBICIN* DIEMBANKAN PADA ZEOLIT SODALIT  
(SOD) SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D)**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**LAILATUL NUR SIAMI**  
NIM 15630078



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**AKTIVITAS *DOXORUBICIN* DIEMBANKAN PADA ZEOLIT SODALIT  
(SOD) SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D)**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**LAILATUL NUR SIAMI**  
**NIM 15630078**

**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**  
**2020**

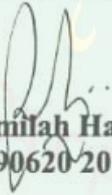
**AKTIVITAS DOXORUBICIN DIEMBANKAN PADA ZEOLIT SODALIT  
(SOD) SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D)**

**SKRIPSI**

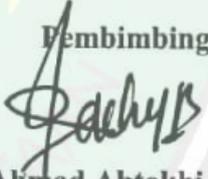
Oleh:  
**LAILATUL NUR SIAMI**  
NIM. 15630078

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 12 Mei 2020

Pembimbing I

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

Pembimbing II

  
**Ahmad Abtokhi, M.Pd**  
NIP. 19710311 200312 1 002



Mengetahui,  
Ketua Jurusan

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

**AKTIVITAS DOXORUBICIN DIEMBANKAN PADA ZEOLIT SODALIT  
(SOD) SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**LAILATUL NUR SIAMI**  
NIM. 15630078

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)  
Tanggal: 12 Mei 2020

<b>Penguji Utama</b>	: Akyunul Jannah, S. Si, M. P NIP. 19750410 200501 2 009	(.....)
<b>Ketua Penguji</b>	: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M. Sc NIDT. 19900906201802012239	(.....)
<b>Sekretaris Penguji</b>	: Elok Kamilah Hayati, M. Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
<b>Anggota Penguji</b>	: Ahmad Abtokhi, M. Pd NIP. 19710311 200312 1 002	(.....)

**Mengetahui,**  
**Ketua Jurusan**



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

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Lailatul Nur Siami

NIM : 15630078

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul : Aktivitas *Doxorubicin* Diembankan pada Zeolit Sodalit (SOD) sebagai Obat Antikanker Payudara (T47D)

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

Malang, 12 Mei 2020  
Yang membuat pernyataan



Lailatul Nur Siami  
NIM. 15630078

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'aliakum Wr. Wb*

*Alhamdulillahirobbil 'Alamin*, puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq dan Hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan laporan hasil penelitian dengan judul **“AKTIVITAS DOXORUBICIN DIEMBANKAN PADA ZEOLIT SODALIT (SOD) SEBAGAI OBAT ANTIKANKER PAYUDARA (T47D)”** dengan semaksimal mungkin meskipun masih terdapat banyak kekurangan. Kami berharap apa yang kami lakukan dapat menjadi bermanfaat.

Sholawat dan salam tidak lupa kami haturkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun kita menuju jalan yang benar, jalan yang diridloi Allah SWT. Semoga Allah melimpahkan rahmatNya kepada beliau, keluarga, sahabat, dan para pengikutnya yang senantiasa meneruskan perjuangan sampai saat ini hingga akhir zaman.

Laporan hasil penelitian ini dibuat untuk memenuhi salah satu kriteria kelulusan yang ada di jurusan kimia. Laporan hasil penelitian ini dapat disusun karena dukungan, motivasi, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga dapat memperlancar penulisan laporan hasil penelitian ini. Oleh karena itu izinkanlah penulis banyak mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Supriyadi dan Ibu Painsi serta saudara penulis adek Novelia Aninun Zahroh yang telah memberikan dukungan moral dan material, nasihat, serta doa sehingga penyusunan laporan hasil penelitian dapat terselesaikan.

2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan pembimbing yang telah memberikan bimbingan, motivasi, serta nasihat kepada penulis.
3. Ibu Susi Nurul Kholifah, M.Si selaku dosen konsultan yang telah memberikan bimbingan, dan pegarahan kepada penulis.
4. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Keluarga tim riset Analitik yang membantu dalam menjalankan penelitian.
7. Teman-teman kimia angkatan 2015 yang saling memotivasi dan membantu terselesaikannya laporan hasil penelitian ini.
8. Seluruh teman-teman mahasiswa yang ikut serta memberikan semangat dan motivasi guna untuk segera menyelesaikan laporan hasil penelitian penelitian dengan baik.

Akhirnya atas segala kekurangan dari penyusunan laporan hasil penelitian penelitian ini, sangat diharapkan kritik dan saran dari semua pembaca demi kesempurnaan penulisan laporan hasil penelitian. Semoga laporan hasil penelitian penelitian ini dapat memberikan informasi dan kontribusi yang positif serta bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Malang, 12 Mei 2020

Penulis

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

Bapak, Ibu, dan Saudariku tercinta

Bapak Supriyadi dan Ibu Paini, serta adikku Novelia

Terima kasih yang selalu tiada henti memberikan do'a dan dukungan secara lahir maupun batin kepada saya selama proses belajar yang sudah saya tempuh

Mas Bagus

Terima kasih yang selalu memberikan do'a, semangat, serta dukungan secara lahir maupun batin

Sahabat analitik 2015 team antikanker Devi, Fiya, Amila, Naras, A'yun, Sukria, Pras serta teman-teman kimia 2015, khususnya kimia B

Terima kasih yang saling memberikan semangat dan doa, semoga kita semua mendapatkan ilmu yang bermanfaat dan barokah, aamiin

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>LEMBAR ORSINALITAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiv</b>
مستخلص البحث.....	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Batasan Masalah .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kanker .....	7
2.1.1 Kanker Payudara .....	7
2.1.2 Sel Kanker Payudara (T47D) .....	8
2.2 <i>Doxorubicin</i> .....	9
2.3 Zeolit .....	10
2.3.1 Zeolit Sodalit (SOD) .....	11
2.4 Zeolit Sodalit (SOD) sebagai Antikanker dan Sistem Pembawa Obat .....	12
2.5 Metode Impregnasi Kering .....	13
2.6 Analisis Zeolit Sodalit (SOD) Sintesis dengan <i>Fourier Transform         Infra-Red (FTIR)</i> .....	14
2.7 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In- Vitro</i> dengan Metode MTT ...	15
2.8 Analisis dengan <i>Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)         Reader</i> .....	16
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian .....	18
3.2 Alat dan Bahan .....	18
3.2.1 Alat .....	18
3.2.2 Bahan .....	18
3.3 Rancangan Penelitian .....	19

3.4 Tahapan Penelitian .....	19
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	20
3.5.1 Pengembanan <i>Doxorubicin</i> pada Zeolit Sodalit (SOD) menggunakan Metode Impregnasi Kering .....	20
3.5.2 Analisis menggunakan <i>Fourier Transform Infra-Red</i> (FTIR) .....	21
3.5.3 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT .....	21
3.5.3.1 Kultur Sel .....	21
a. Persiapan Alat.....	21
b. Penyiapan Sel .....	21
c. Perhitungan Sel Kanker .....	22
d. Peletakan Sel pada <i>Plate</i> .....	23
3.5.3.2 Pembuatan Larutan Uji .....	23
3.5.3.3 Uji Poliferasi Sel (Uji MTT) .....	23
a. Pemberian Larutan Uji .....	23
b. Pemberian Larutan MTT .....	24
3.5.3.4 Analisis Data .....	25
3.5.4 Analisis Pelepasan Obat dari <i>Doxorubicin</i> /Zeolit Sodalit (SOD) .....	25
3.5.4.1 Analisis Standar <i>Doxorubicin</i> .....	26
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHSAN</b>	
4.1 Karakter <i>Doxorubicin</i> yang Diembankan pada Sodalit .....	27
4.2 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT .....	30
4.3 Analisis Laju Pelepasan Obat Kombinasi <i>Doxorubicin</i> pada Sodalit .....	36
4.4 Hasil Peneltian dalam Prespektif Islam .....	39
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43
<b>LAMPIRAN</b> .....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur <i>doxorubicin</i> .....	10
Gambar 2.2 Kerangka sodalit .....	11
Gambar 2.3 Spektrum FTIR zeolit sodalit standar .....	14
Gambar 2.4 Reaksi reduksi MTT menjadi formazan.....	15
Gambar 3.1 Kurva standar <i>doxorubicin</i> .....	26
Gambar 4.1 Sampel sebelum dan setelah pengembangan .....	27
Gambar 4.2 Ilustrasi interaksi antara sodalit dengan <i>doxorubicin</i> .....	28
Gambar 4.3 Spektra FTIR a) Sodalit, b) <i>Doxorubicin</i> , c) DOX/SOD 5:5, d) DOX/SOD 5:10, dan e) DOX/SOD 5:15 .....	29
Gambar 4.4 Morfologi (a) sel T47D, (b) sel T47D setelah pemberian MTT, (c) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 25 µg/mL, (d) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 12,5 µg/mL, (e) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 6,25 µg/mL, (f) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 3,125 µg/mL .....	33
Gambar 4.5 Kurva strandar <i>doxorubicin</i> .....	37
Gambar 4.6 Persentase pelepasan <i>doxorubicin</i> dari zeolit sodalit .....	38

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbedaan antara ELISA <i>reader</i> dengan Spektrofotometer UV-Vis ..	16
Tabel 4.1 Interpretasi spektra FTIR sodalit, <i>doxorubicin</i> , dan hasil pengembanan DOX/SOD .....	30
Tabel 4.2 Nilai IC <sub>50</sub> uji aktivitas antikanker.....	34



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian .....	48
Lampiran 2. Skema Kerja .....	49
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan .....	56
Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian .....	59
Lampiran 5. Dokumentasi .....	66



## ABSTRAK

Siami, L. N. 2020. **Aktivitas *Doxorubicin* Diembankan pada Zeolit Sodalit (SOD) sebagai Obat Antikanker Payudara (T47D)**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Mulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M. Si; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd.

---

**Kata Kunci:** *doxorubicin*, zeolit sodalit (SOD), impregnasi kering, sel kanker payudara (T47D), metode MTT, laju pelepasan obat

*Doxorubicin* adalah salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antikanker. Pengurangan efek samping dapat dilakukan dengan mengontrol laju pelepasan obat dengan mengembankan pada material anorganik, salah satunya adalah sodalit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter dan aktivitas *doxorubicin* yang diembankan pada sodalit dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D).

Pengembanan *doxorubicin* pada zeolit sodalit (SOD) menggunakan metode impregnasi kering dengan perbandingan 5:5; 5:10; dan 5:15. Identifikasi hasil pengembanan menggunakan FTIR untuk mengetahui karakter *doxorubicin* yang terembankan pada sodalit. Kemudian Metode uji aktivitas antikanker menggunakan metode MTT untuk mengetahui jumlah sel hidup. Selanjutnya dihitung persentase sel hidup tiap sampel dengan ELISA *reader* dan dianalisis menggunakan rumus perhitungan sehingga dapat diketahui nilai  $IC_{50}$ . Selanjutnya analisis laju pelepasan obat dilakukan dengan menggunakan instrumen UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan keberhasilan pengembanan *doxorubicin* pada sodalit secara kualitatif menghasilkan perubahan warna menjadi merah, dan secara kuantitatif menggunakan FTIR menghasilkan serapan khas pada pada bilangan gelombang  $1631,7\text{ cm}^{-1}$  vibrasi ulur C=C dari *doxorubicin*, dan  $985,62\text{ cm}^{-1}$  vibrasi ulur asimetri O-T-O (T=Si atau Al) dari zeolit. Nilai  $IC_{50}$  dari hasil pngembanan variasi DOX/SOD 5:5; 5:10; dan 5:15 berturut-turut sebesar  $2,26\text{ }\mu\text{g/mL}$ ;  $2,45\text{ }\mu\text{g/mL}$ ; dan  $4,13\text{ }\mu\text{g/mL}$ . Analisis laju pelepasan obat dilakukan pada sampel variasi DOX/SOD variasi terbaik yaitu 5:5 menghasilkan an pada pH 1,2 *doxorubicin* yang terlepas dari sodalit sebesar 7,34%.

## ABSTRACT

Siami, L. N. 2020. Activity of Doxorubicin Loading in Sodalite Zeolite (SOD) as a Drug of Anticancer Breast (T47D). Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Mulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M. Si; Advisor II: Ahmad Abtokhi, M.Pd.

---

Keywords: doxorubicin, sodalite zeolite (SOD), dry impregnation, breast cancer cells (T47D), MTT method, rate of drug release

Doxorubicin is a compound that has potential as an anticancer. Reduction of side effects can be done by controlling the rate of drug release by loading it on an inorganic material, one of which is sodalite. This research aims to determine the loading of doxorubicin in sodalite can increase the effectiveness of compounds in inhibiting the growth of breast cancer cells (T47D).

The treatment of doxorubicin in sodalite zeolites (SOD) using the dry impregnation method with a ratio of 5: 5; 5:10; and 5:15. Identification of the results of the development uses FTIR. Then the anticancer activity test method uses the MTT method. Furthermore, the percentage of living cells per sample was calculated with an ELISA reader and analyzed using the calculation formula so that IC<sub>50</sub> values can be determined. Furthermore, the analysis of the rate of drug release was carried out using a UV-Vis instrument.

The results showed that the success of doxorubicin loading on sodalite qualitatively resulted in a change in color to red, and quantitatively using FTIR produced a typical absorption at wave number gelombang 1631,7 cm<sup>-1</sup> stretching vibration C = C of doxorubicin, and 985,62 cm<sup>-1</sup> asymmetric stretching vibration OTO (T = Si or Al) of zeolites. IC<sub>50</sub> values from the variation of DOX / SOD 5: 5; 5:10; and 5:15 respectively 2.26 µg / mL; 2.45 µg / mL; and 4.13 µg / mL. Analysis of drug release rate was performed on the best variation DOX / SOD sample variation of 5: 5 resulting at a pH of 1.2 doxorubicin which was released from sodalite at 7.34%.

## مستخلص البحث

سيامي، ل. ن. 2020. نشاط دوكسوروبيسين تنفيذه على الزيوليت الصوداليت (*SOD*) كدواء مضاد للسرطان الثدي (*T47D*). رسالة الليسانس. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير؛ المشرف الثاني: أحمد أبطوخي، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: دوكسوروبيسين، زيولايت الصوداليت (*SOD*)، التلقيح الجاف، خلايا سرطان الثدي (*T47D*)، طريقة *MTT*، معدل إطلاق المخدرات

دوكسوروبيسين هو واحد من المركبات المضادة للسرطان المحتملة. ويمكن الحد من الآثار الجانبية عن طريق السيطرة على معدل تصريف الدواء عن طريق التضحية بالمواد غير العضوية، واحدة منها الصودا. يهدف هذا البحث إلى تحديد شخصية ونشاط دوكسوروبيسين الذي يتم تنفيذه على الصودايت في تثبيط نمو خلايا سرطان الثدي (*T47D*).

تنفيذ دوكسوروبيسين على زيولايت الصوداليت (*SOD*) يستخدم أساليب التلقيح الجاف بنسبة 5:5؛ 5:10؛ و5:15. تحديد نتائج التطوير باستخدام *FTIR* لتحديد الحرف دوكسوروبيسين التي تم التضحية بها في الصودايت. ثم تستخدم طريقة اختبار النشاط المضاد للسرطان طريقة *MTT* لمعرفة عدد الخلايا الحية. نسبة مئوية محسوبة إضافية من الخلايا الحية لكل عينة مع قارئ *ELISA* وتحليلها باستخدام صيغة الحساب بحيث يمكن معرفة قيمة *IC50*. يتم إجراء مزيد من التحليل لمعدل إطلاق الدواء باستخدام أجهزة الأشعة فوق البنفسجية فيس.

وأظهرت النتائج أن نجاح تطوير دوكسوروبيسين في الصوداليت النوعية أدى إلى تغيير اللون إلى اللون الأحمر، وكمية باستخدام *FTIR* تنتج الزيادة المميزة على عدد الموجات 1631.7 سم<sup>-1</sup> الشد الاهتزاز  $C = C$  من دوكسوروبيسين، و 985.62 سم<sup>-1</sup> الاهتزاز الشد عدم التماثل ( $O-T-O$  أو  $Si = T$  أو  $Al$ ) من الزيوليت. قيمة *IC50* من الاختلاف  $DOX/SOD$  5:5؛ و 5:10؛ و 5:15 على التوالي من 2.26 ميكروغرام / مل؛ 2.45 ميكروغرام/مل؛ و 4.13 ميكروغرام/مل. يتم تحليل معدل الإفراج عن الدواء في اختلاف عينة من  $DOX/SOD$  أفضل اختلاف هو 5:5 إنتاج في درجة الحموضة 1.2 دوكسوروبيسين الذي يتم فصله من الصودايت بنسبة 7.34٪.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang tergolong berbahaya, tidak menular, namun cenderung terus meningkat di setiap tahunnya. Pada tahun 2017 diperkirakan terdapat hampir 1,7 juta penderita kanker di dunia (Wakharde dkk., 2018). Menurut data *GLOBOCAN, International Agency for Research on Cancer (IARC)* (2018) menggambarkan bahwa penderita kanker di dunia meningkat hingga 18,1 juta dengan jumlah kematian mencapai 9,6 juta dan kawasan terbesar terjadi di bagian Asia yaitu 57,3% (WHO, 2018).

Kanker payudara adalah sekelompok sel tidak normal pada payudara yang tumbuh berlipat ganda dan sel-sel tersebut semakin menyebar dan tidak terkontrol sehingga dapat menyebabkan kematian (Hondermarck, 2003). Sel kanker payudara (T47D) memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitasnya tinggi, mudah dalam penanganannya, serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall dkk., 2003). Pengobatan kanker secara medis umumnya membutuhkan biaya yang mahal dan berefek samping pada penderita. Tiga metode dalam pengobatan kanker secara medis yaitu tindakan bedah, radiasi, dan kemoterapi (Sukardja, 2000). Segala macam penyakit pasti ada obatnya, hal tersebut diterangkan dalam hadist maupun kitab suci Al-Qur'an,

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

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

Allah SWT menurunkan berbagai jenis penyakit termasuk kanker payudara, pasti terdapat penawarnya salah satunya dengan usaha peneliti menemukan obat antikanker payudara yaitu *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit sodalit (SOD).

Sesuai dengan firman Allah pada QS. Yunus ayat 101 sebagai berikut,

قُلْ انظُرُوا مَاذَا فِي السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَمَا تُعْنٰى الْاٰيٰتِ وَالنُّذُرِ عَنْ قَوْمٍ لَا يُؤْمِنُوْنَ

Artinya: Katakanlah, “Perhatikanlah apa yang ada di langit dan di bumi!” Tidaklah bermanfaat tanda-tanda (kebesaran Allah) dan rasul-rasul yang memberi peringatan bagi orang yang tidak beriman.

Ash-Shiddieqy (2000) menjelaskan bahwa Allah SWT menundukkan segala sesuatu yang di langit dan di bumi untuk kemaslahatan manusia. Manusia diciptakan dengan kekuatan akal dan pikiran oleh Allah SWT untuk dapat dimanfaatkan sehingga mencapai tujuannya. Sesungguhnya demikian itu terdapat tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan Allah SWT bagi orang yang suka berfikir dan beriman. Hal ini menjadikan manusia untuk dapat memanfaatkan sesuatu yang ada di muka bumi (Shihab, 2002).

Umumnya upaya penyembuhan kanker dengan kemoterapi dapat menggunakan obat-obatan salah satunya *doxorubicin* (Smith *et al.*, 2006). *Doxorubicin* merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker termasuk kanker payudara (Childs *et al.*, 2002). *Doxorubicin* memiliki banyak efek samping sehingga digunakan dalam bentuk kombinasi untuk meningkatkan respon klinis dan pengurangan efek samping (Bruton *et al.*, 2005). Salah satu caranya dengan diimbangkan pada zeolit.

Zeolit merupakan material berpori dengan luas permukaan yang besar Menurut penelitian Ghazi dkk., (2013), zeolit dapat menghambat proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viabilitas secara *in-vitro*. Selain itu juga dapat

digunakan sebagai DDS (*Drug Delivery System*) atau sebagai sistem pembawa obat karena struktur zeolit yang teratur dan komposisi adanya rongga atau pori. Hal tersebut yang membuat zeolit dapat digunakan sebagai pengemban atau matriks molekul obat. Zeolit yang menarik dalam sintesis dan aplikasinya yaitu zeolit sodalit (SOD). Zeolit sodalit (SOD) ini memiliki unit pembangun  $\beta$ -cages terdiri atas 6 buah cincin dan 4 cincin yang bergabung membentuk kubohedron, 6 buah cincin yang dimiliki zeolit ini memiliki pori-pori dengan diameter ruang 6.31 Å dan diameter jendela 2,53 Å. Selain itu zeolit sodalit (SOD) mudah disintesis. Laju pelepasan obat yang terkontrol dapat meningkatkan efektivitas obat dan mengurangi efek samping. Menurut Vilaca dkk., (2013) menunjukkan bahwa zeolit NaY mampu masuk ke dalam sitoplasma sel dan mengontrol pelepasan obat dengan mencapai maksimal 80% pelepasan selama 48 jam.

Beberapa penelitian telah menggunakan zeolit sebagai DDS di antaranya menurut Ghazi dkk., (2013) yaitu dengan 50 mg/mL zeolit X dan Y dengan penambahan 5% suplemen FBS (*Fetal Bovine Serum*) yang akan memberikan pengaruh aktivitas tinggi dalam proses penghambatan proliferasi sel kanker dan pengurangan sel viability secara *in-vitro* yaitu sebesar 70,6%. Menurut Lilbaiq (2017) dalam penelitiannya juga menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak yang diembankan pada zeolit NaX dengan perbandingan 5:10 lebih efektif dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 67,343 sebagai antikanker sel payudara (T47D) dibandingkan ekstrak daun sirsak tanpa pengemban yaitu sebesar 83,6 µg/mL. Pengemban senyawa antikanker pada zeolit sodalit (SOD) dilakukan sesuai dengan penelitian yaitu dengan menggunakan metode impregnasi salah satunya impregnasi kering (Vilaca dkk., 2013).

Metode Impregnasi kering (*dry impregnation*) yaitu penjujukan zat tertentu yang dilakukan dengan mengisi pori pengemban dengan larutan logam aktif melalui adsorpsi logam, yaitu melalui perendaman senyawa pengemban dalam larutan yang mengandung logam aktif dengan perbandingan yang sama kisaran 1-1,2 kali dari volume pori pengemban. Impregnasi kering menggunakan jumlah pelarut yang sedikit dibandingkan dengan impregnasi basah, sehingga dalam proses pengeringan menghabiskan waktu yang lebih sebentar sehingga kemungkinan molekul senyawa yang diembankan terhindar dari paparan suhu pemanasan yang lebih lama dan menurunkan resiko kerusakan senyawa. Penelitian Laila (2016) melakukan pengembanan ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX dengan perbandingan 5:10 menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 71.076,923  $\mu\text{g/mL}$  dengan metode impregnasi basah dan nilai  $IC_{50}$  67,343  $\mu\text{g/mL}$  dengan metode impregnasi kering.

Uji sitotoksitas *doxorubicin* yang diembankan pada zeolit sodalit (SOD) pada sel kanker T47D menggunakan metode assay MTT. Prinsip uji metode assay MTT termasuk dalam metode spektroskopi yaitu dengan menentukan nilai absorbansi formazan. Proses pengujian sitotoksitas dengan metode assay MTT merupakan metode yang umum digunakan untuk menetapkan jumlah sel sehingga dapat diketahui sitotoksitas dari obat tersebut sebagai obat antikanker. Metode assay MTT digunakan pada pengujian secara *in-vitro* karena memiliki beberapa kelebihan yaitu waktu yang dibutuhkan lebih singkat, senyawa yang dibutuhkan lebih sedikit, dan dapat secara langsung memberikan informasi mengenai efek terhadap sel manusia yang telah dikultur.

Berdasarkan uraian diatas, banyak penelitian mengenai zeolit jenis *faujasite* seperti zeolit X dan zeolit Y sedangkan zeolit sodalit (SOD) belum ada maka perlu

dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zeolit sodalit (SOD) termasuk *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit sodalit (SOD) dengan metode impregnasi kering yang digunakan sebagai obat antikanker. Hal ini dilakukan agar dapat ditemukan agen antikanker yang memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D).

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, perumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana karakterisasi *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit sodalit (SOD) ?
2. Bagaimana aktivitas *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit sodalit (SOD) terhadap sel kanker payudara (T47D) ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui karakterisasi *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit sodalit (SOD) .
2. Untuk mengetahui aktivitas *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit sodalit (SOD) terhadap sel kanker payudara (T47D).

### 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Sampel yang digunakan adalah *doxorubicin*
2. Zeolit yang digunakan adalah zeolit sodalit (SOD) yang didapatkan dari peneliti di Laboratorium Kimia Anorganik UIN Malang.

3. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara T47D.
4. Metode pengembanan yang digunakan adalah impregnasi kering.
5. Perbandingan kombinasi *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) yang digunakan adalah 5:5, 5:10, dan 5:15.
6. Metode uji yang digunakan adalah metode 3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT).

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai kemampuan *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) sebagai agen antikanker sehingga dapat dikembangkan sebagai obat antikanker.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kanker**

##### **2.1.1 Kanker Payudara**

Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan hilangnya mekanisme kontrol normal yang mengatur kesintasan, proliferasi, dan diferensiasi sel (Katzung dkk., 2013). Menurut Diananda (2009) kanker disebabkan adanya pertumbuhan sel-sel dalam tubuh secara tidak normal yang menekan jaringan normal sehingga mempengaruhi fungsi jaringan dalam tubuh. Pertumbuhan sel kanker terjadi sangat cepat, tidak terkendali dan terus membelah diri (Maharani, 2009). Data *GLOBOCAN* menyebutkan di tahun 2018 penderita kanker di dunia meningkat hingga 18,1 juta dengan jumlah kematian mencapai 9,6 juta dan kawasan terbesar terjadi di bagian Asia yaitu 57,3% dengan angka kejadian tertinggi untuk perempuan adalah kanker payudara.

Penyebab dari kanker payudara sampai saat ini belum diketahui secara pasti, diperkirakan penyebab kanker payudara adalah multifaktorial sesuai dengan kekebalan dan sistem kerja sel dalam setiap tubuh manusia (Tambunan, 2003). Faktor resiko yang sangat berpengaruh antara lain faktor genetik, faktor endokrin, faktor lingkungan, karsinogen kimia (terutama pada asap rokok), dan virus (Katzung dkk., 2013). Perkembangan kanker umumnya melalui empat tahapan yakni inisiasi, pertumbuhan (*growth*), survival, dan metastatis.

Gejala umum kanker payudara menurut Sukaca dan Suryaningsih (2009) dapat diraba dan ditandai adanya benjolan pada payudara yang biasanya semakin

mengeras, tidak beraturan, serta timbul rasa nyeri. Gejala lain yang tampak misalnya perubahan bentuk dan ukuran, terjadinya kerutan pada kulit payudara. Proses pengobatan kanker berkembang luas dengan adanya perkembangan pengobatan secara medis dan juga secara tradisional. Kemoterapi adalah salah satu pengobatan secara medis yang umumnya diikuti oleh penderita kanker. Namun, pengobatan secara medis memiliki banyak efek samping bagi penderita seperti mual, diare, lemas, mudah terkena infeksi dan lain-lain. Pengobatan tradisional tidak memiliki efek samping jika digunakan dengan dosis yang sesuai, cara penggunaan yang tepat, waktu penggunaan yang sesuai dan fungsi yang sesuai dari obat itu sendiri (Lusia, 2006).

### **2.1.2 Sel Kanker Payudara (T47D)**

Sel T47D adalah salah satu model sel kanker payudara yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Sel ini dapat ditumbuhkan melalui media dasar RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) (ATCC, 2008) dan memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi, mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall dkk., 2003). Sel ini sensitif terhadap *doxorubicin* (Zampieri dkk., 2002).

Menurut Aka dan Lin (2012) dalam penelitiannya membandingkan antara sel T47D dan MCF7 secara proteomik. Sel T47D memiliki protein terlibat dalam stimulasi pertumbuhan sel, mekanisme apoptis dan kanserogenesis lebih kuat dibandingkan dengan MCF7.

## **2.2 Doxorubicin**

*Doxorubicin* adalah jenis obat antikanker golongan antrasiklin yang masuk dalam golongan obat nonspesifik siklus-sel (*cell cycle nonspecific, CCNS*) yang efektif bekerja mematikan sel-sel yang sedang menjalani siklus sel maupun sedang beristirahat (Katzung dkk., 2013). Senyawa ini diisolasi dari *Streptomyces peucetius var caesius* pada tahun 1960-an dan telah digunakan secara luas (Minotti *et al.*, 2004). Manfaat dari segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT telah disebutkan dalam al Qur'an surah Al- Ahqaf ayat 3.

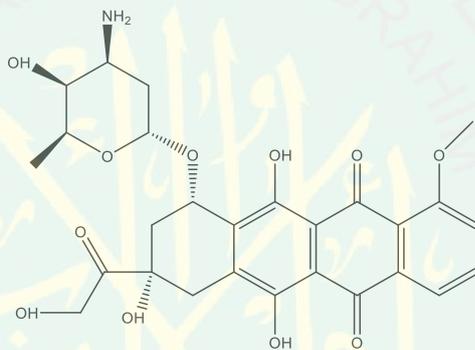
مَا خَلَقْنَا السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا إِلَّا بِالْحَقِّ وَأَجَلٍ مُّسَمًّى وَالَّذِينَ كَفَرُوا عَمَّا أُنذِرُوا مُّعْرِضُونَ

Artinya: “Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya melainkan dengan (tujuan) yang benar dan dalam waktu yang ditentukan. Namun orang-orang yang kafir, berpaling dari peringatan yang diberikan kepada mereka.”

Allah SWT menciptakan langit dan bumi dan segala makhluk yang ada didalamnya dengan cara dan tujuan yang benar serta mengandung hikmah dengan batas waktu yang telah dikehendaki. Umumnya *doxorubicin* digunakan untuk terapi berbagai macam kanker seperti leukimia akut, kanker tulang, ovarium dan kanker payudara (Childs *et al.*, 2002). Penggunaan *doxorubicin* sebagai obat kemoterapi didasarkan pada tiga keadaan klinis utama: (1) terapi induksi primer untuk kanker dengan stadium lanjut dan belum memiliki pendekatan terapeutik efektif, (2) terapi neoadjuvan untuk pasien dengan kanker lokal dan telah mengalami proses terapi alternatif misalnya pembedahan dengan hasil yang kurang efektif, dan (3) terapi adjuvan untuk mengurangi adanya kekambuhan dan memperbaiki kesintasan pada pasien (Katzung dkk., 2013). Berdasarkan mekanisme obat untuk mengatasi sel kanker, *doxorubicin* memiliki mekanisme aksi sitotoksik melalui empat tahap yaitu, penghambatan topoisomerase II, interkalsi DNA sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA, pengikatan membran sel yang menyebabkan aliran dan

transpor ion, serta pembentukan radikal bebas yang berperan pada kardiotoxicitas (Bruton *et al.*, 2005).

Penggunaan *doxorubicin* dalam jangka panjang dapat menyebabkan kardiotoxicitas, dan bersifat irreversibel sehingga penggunaan *doxorubicin* terbatas (Han *et al.*, 2008). Penggunaan *doxorubicin* lebih efektif dalam bentuk kombinasi dengan agen antikanker lainnya seperti siklofosamid, cisplatin, dan 5-FU daripada bentuk tunggal karena efek yang ditimbulkan lebih rendah (Bruton *et al.*, 2005). Struktur *doxorubicin* dapat digambarkan sebagai berikut,



Gambar 2.1. Struktur *doxorubicin*

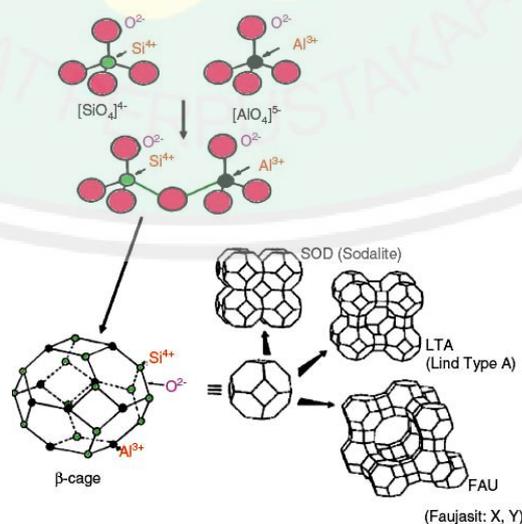
### 2.3 Zeolit

Zeolit merupakan material nanopori (Auerbach dkk., 2003) yang memiliki banyak kegunaan di antaranya sebagai adsorben, penukar ion, sensor, katalis, dan penyaring molekul (Ahkam, 2011). Zeolit terdiri dari kristal alumina silikat terhidrasi yang mengandung kation alkali atau alkali tanah dalam kerangka tiga dimensi, terbentuk dari tetrahedral  $[\text{SiO}_4]^{4-}$  dan  $[\text{AlO}_4]^{5-}$  yang dihubungkan oleh atom-atom oksigen menghasilkan struktur tiga dimensi yang terbuka dan berongga dengan adanya atom-atom logam dan molekul air di dalamnya yang dapat bergerak

bebas. Salah satu contoh hasil sintesis zeolit alam adalah zeolit sodalit (SOD) (Oktaviani dan Muttaqin, 2015).

### 2.3.1 Zeolit Sodalit (SOD)

Zeolit sodalit (SOD) termasuk dalam kelompok material zeolit yang merupakan material tuan rumah (*host molecule*) yang penting untuk menciptakan susunan periodik sederhana dari berbagai jenis zeolit sintetis. Zeolit sodalit umumnya digunakan sebagai penyusun kerangka zeolit A (LTA), Faujasit (FAU), *Hexagonal* MFI (EMT), Franzinit (FRA), dan lain sebagainya (Xu dkk., 2007). Sodalit (SOD) dengan rumus molekul  $\text{Na}_8(\text{AlSiO}_4)_6\text{Cl}_2$  terusun dari unit bangunan primer yaitu tetrahedral  $\text{SiO}_4^-$  dan  $\text{AlO}_4^-$  yang saling berikatan. Karakteristik dari zeolit sodalit (SOD) memiliki unit pembangun  $\beta$ -cages terdiri atas 6 buah cincin dan 4 cincin yang bergabung membentuk kubohedron. 6 buah cincin yang dimiliki zeolit ini memiliki pori-pori kecil dengan diameter pori  $6.31\text{\AA}$  (*cage diameter*) dan  $2.53\text{\AA}$  (*window diameter*) dengan sistem kristal isotermik. Umumnya warna dari sodalit antara abu-abu, putih, hijau, dan biru. Berikut dapat digambarkan kerangka dari sodalit (Park dkk., 2006).



Gambar 2.2. Kerangka sodalit (Park dkk., 2006)

#### 2.4 Zeolit Sodalit (SOD) sebagai Antikanker dan Sistem Pembawa Obat

Zeolit sodalit (SOD) umumnya digunakan sebagai penukar ion, sebagai adsorben, sebagai katalis, dan sebagai penyusun kerangka zeolit yang lain (Ahkam, 2011). Zeolit sodalit (SOD) secara khusus dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System* (DDS)) dan agen pengontrol pelepasan obat. Hal tersebut dipengaruhi oleh karakteristik dari zeolit yang memiliki struktur dan komposisi pori yang teratur dengan adanya rongga (Baerlocher, 2007). Adanya rongga yang membuat zeolit sodalit (SOD) dapat digunakan sebagai pengemban molekul obat. Salah satu manfaat dari penggunaan zeolit sodalit (SOD) tersebut telah disebutkan dalam al Qur'an surah Al Jatsiyah ayat 13.

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ

Artinya: “Dan Dia menundukkan apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi untukmu semuanya (sebagai rahmat) dari-Nya. Sungguh, dalam hal yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang berpikir.”

Pengembanan senyawa *doxorubicin* atau senyawa antikanker oleh zeolit sodalit (SOD) dapat meningkatkan efektivitas obat atau senyawa dalam proses menghambat pertumbuhan sel kanker, selain itu zeolit sodalit (SOD) yang mengemban senyawa dapat menjadikan obat senyawa tersebut bersifat hidrofobik dan terjadi difusi pasif sehingga tidak membutuhkan energi untuk masuk atau keluar sel sehingga dapat mengontrol laju pelepasan obat. Adanya kontrol tersebut menambah tingkat efisiensi obat dan mengurangi efek samping. Adanya hikmah dari ayat tersebut merupakan salah satu dari tanda kebesaran Allah SWT bagi kaum yang berfikir. Selain itu Allah meratakan bumi yaitu untuk makhlukNya yang terdapat dalam al-Qur'an surah Ar-Rahman ayat 10.

Artinya: “Dan bumi telah dibentangkan-Nya untuk makhluk(-Nya).”

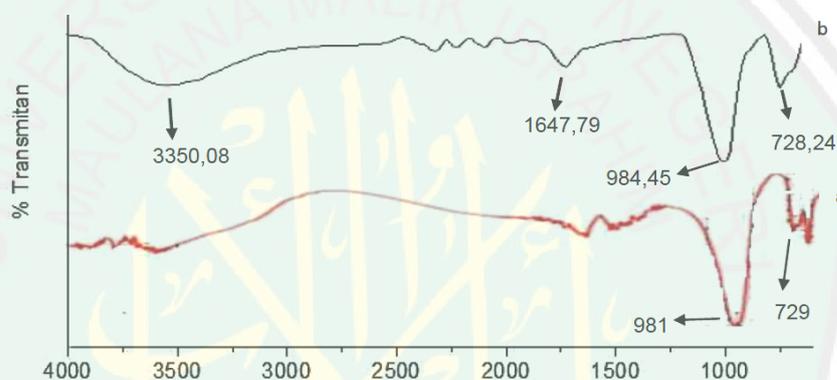
Tafsir Al-Wajiz menjelaskan bahwa nikmat yang lain bagi hamba Allah yaitu bahwasannya Allah menciptakan bumi dan menghamparkannya serta menyediakan di dalamnya unsur-unsur kehidupan, dan Allah menakdirkan di dalamnya terdapat rizki bagi makhluknya.

## 2.5 Metode Impregnasi Kering

Impregnasi merupakan proses penjiwaan zat tertentu yang dilakukan dengan mengisi pori pengemban dengan larutan logam aktif melalui adsorpsi logam, yaitu melalui perendaman senyawa pengemban dalam larutan yang mengandung logam aktif. Metode impregnasi diklasifikasikan menjadi dua jenis berdasarkan perbandingan volume larutan sampel dengan volume pori pengemban, yaitu impregnasi kering dan impregnasi basah. Impregnasi kering (*Dry Impregnation*) adalah metode impregnasi dengan menggunakan perbandingan volume larutan sampel sebanding dengan volume pori pengemban dengan kisaran 1-1,2 kali dari volume pori pengemban. Impregnasi kering memiliki keuntungan menghindari penyaringan dan meminimalkan kebutuhan larutan. Sedangkan impregnasi basah adalah metode yang menggunakan perbandingan volume larutan sampel lebih banyak dari volume pori pengemban dengan kisaran 1,5 kali. Mekanisme impregnasi melalui beberapa tahapan penting antara lain, (1) kontak senyawa pengemban dengan larutan sampel dalam waktu tertentu; (2) proses pengeringan; dan (3) aktivasi dengan kalsinasi.

## 2.6 Analisis Zeolit Sodalit (SOD) Sintesis dengan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)

Karakterisasi zeolit hasil sintesis dapat dilakukan menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Selain itu keberhasilan impregnasi senyawa antikanker pada zeolit juga dapat dianalisis menggunakan FTIR. *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) merupakan metode analisis menggunakan teknik spektroskopi inframerah dengan rentang frekuensi  $4000-400\text{ cm}^{-1}$ . Metode FTIR didasarkan pada pada molekul dengan gugus fungsi tertentu dan frekuensi spesifik yang dihubungkan dengan vibrasi dari atom gugus fungsi tersebut (Sibilia, 1996). Hasil analisis FTIR tersebut dapat ditunjukkan pada Gambar 2.3.



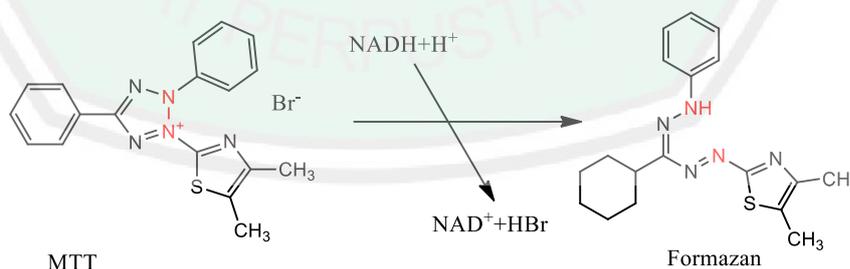
Gambar 2.3. Spektrum FTIR zeolit sodalit standar (Sari *et al.*, 2018)

Hasil spektrum FTIR pada zeolit sodalit (SOD) memiliki serapan yang khas yaitu pada bilangan gelombang  $997-981\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi ulur asimetri T-O-T (T= Si atau Al) dan bilangan gelombang  $729-717\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi ulur simetri T-O-T dari zeolit (Sari *et al.*, 2018). Zeolit secara umum mempunyai daerah serapan karakteristik sekitar  $1200-300\text{ cm}^{-1}$  (Mozgawa dkk., 2011). Pita serapan lebar pada bilangan gelombang  $3350,08\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya vibrasi regangan ikatan OH.

## 2.7 Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro* dengan Metode MTT

Uji MTT merupakan uji yang sensitif dengan terjadinya reaksi MTT, yaitu reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal, 2009). Kelebihan metode uji MTT yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, dapat digunakan untuk sampel dalam jumlah besar dan hasil yang diperoleh dapat digunakan untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam Methylthiazol Tetrazolium (MTT) membentuk kristal formazan berwarna biru keunguan (Mosman, 1983).

Intensitas warna ungu yang dihasilkan sebanding dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna biru semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Mosman, 1983). Analisa konsentrasi formazan dapat digunakan spektrofotometri visibel yang berbanding lurus dengan jumlah sel hidup. Absorbansi yang dihasilkan dapat diukur dengan menggunakan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 500-600 nm. Semakin besar nilai absorbansi yang dihasilkan menandakan semakin banyak jumlah sel hidup. Reaksi reduksi MTT dapat digambarkan sebagai berikut (Meiyanto, 1999) :



Gambar 2.4. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan

Uji MTT digunakan untuk menentukan parameter nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitostatik, menunjukkan nilai

konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai  $IC_{50}$  juga merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Suatu senyawa dianggap toksik terhadap sel kanker jika memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 1000 ppm.

## 2.8 Analisis dengan *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) Reader*

*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) reader* adalah alat yang dapat mengukur jumlah dari cahaya yang menembus sumuran dari *microplate* sehingga dapat diketahui keberadaan suatu antigen atau antibodi. Enzim yang terikat pada kompleks antigen-antibodi yang terbentuk akan memberikan perubahan warna pada cairan sehingga akan memberikan *optical density* yang berbeda. Perubahan warna terjadi karena adanya pereagen yang sesuai yaitu MTT (Pamilih, 2009).

Prinsip *ELISA reader* memiliki kesamaan dengan spektrofotometri UV-Vis. Perbedaan terletak pada struktur alat.

Tabel 2.1 Perbedaan antara *ELISA reader* dengan Spektrofotometri UV-Vis

Perbedaan	Spektrofotometri UV-Vis	<i>ELISA reader</i>
Sumber cahaya datang	Cahaya datang dari sebelah kanan atau kiri kuvet, dari sisi tegak	Cahaya datang dari atas ke bawah (atau kebalikannya)
Wadah sampel	Kuvet	<i>Well plate</i> ( satu plat bisa memiliki 96 sumuran)
Tebal kuvet	Tebal kuvetnya dihitung dan biasanya panjang lebar kuvet tetap	Volume satu plat harus sama (semakin banyak volume sampel, semakin tinggi larutan sampelnya)

*ELISA reader* dapat menghasilkan *optical density* atau nilai absorbansi berdasarkan pengenceran material standar. Nilai absorbansi yang dapat digunakan

untuk memprediksi sampel dalam menghambat kanker, karena semakin besar nilai absorbansi yang dihasilkan semakin banyak sel yang hidup (Meiyanto, 1999). Hasil dari proses ELISA *reader* secara kuantitatif akan terbentuk kurva *dose-respone* antara besaran konsentrasi (x) dan nilai absorbansi (y). Intensitas cahaya yang diserap pada panjang gelombang tertentu berbanding lurus dengan besar nilai absorbansi (y). Jika semakin banyak intensitas cahaya yang diserap, maka semakin besar nilai absorbansi (y). Semakin kecil nilai intensitas cahaya yang diserap, semakin kecil pula nilai (y) (Crowther, 2001).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli-Desember 2019 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim 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 di antaranya seperangkat alat gelas, *tissue*, oven, kertas saring, aluminium foil, neraca analitik, spatula, *magnetic stirrer*, *hot plate*, botol semprot, autoklaf, *laminar air flow*, *inverted microscope*, mikropipet 10, 100, dan 1000  $\mu\text{L}$ , *yellow tip*, *blue tip*, *sentrifuge*, plat 96 well, desikator, *conical tube*, vortex, *shaker* inkubator, botol vial, *culture dish*, *hemacytometer*, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) reader*, mortal batu *agate*, alat pengepres dan spektrofometer *Fourier Transform InfraRed (FTIR)*.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *doxorubicin*, zeolit sodalit (SOD), Sel kanker T47D koleksi *Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC)* dari Universitas Gajah Mada, akuades, etanol 70%, media RPMI, PBS (*Phosphate Buffer Saline*), Medium Komplit (10% FBS (*Fetal Bovine Serum*)), 0,5% *Fungizone*, 1-2% Penstrep (*Penicillin-Streptomisin*), RPMI), Tripsin-EDTA,

DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), larutan MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10%, 0,01 N HCl, dan padatan KBr.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan pengujian terhadap *doxorubicin* yang diimbangkan pada zeolit sodalit (SOD) sebagai obat antikanker sel payudara (T47D). Pengujian secara eksperimental tersebut dilakukan di laboratorium dengan tahap awal yaitu sampel (*doxorubicin*) diimbangkan kedalam zeolit sodalit (SOD) menggunakan metode impregnasi kering dengan variasi *doxorubicin* dan sodalit (SOD) 5:5, 5:10, dan 5:15. Kemudian campuran distirer selama 48 jam (2 hari). Setelah campuran homogen, dioven untuk memaksimalkan hasil impregnasi. Selanjutnya sampel *doxorubicin*, zeolit sodalit (SOD), dan kombinasi antara *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Kemudian diuji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara (T47D) menggunakan ELISA reader dengan metode MTT secara *in-vitro*. Hasil pengujian terbaik menggunakan ELISA reader tersebut dilakukan analisis laju pelepasan obat dari *doxorubicin*/zeolit sodalit (SOD).

### 3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian ini meliputi:

1. Preparasi sampel
2. Pengembanan *doxorubicin* pada zeolit sodalit (SOD) menggunakan metode impregnasi kering
3. Analisis hasil impregnasi menggunakan *Fourier Transasfrom Infra-Red* (FTIR)
4. Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT

5. Analisis Data
6. Analisis Laju pelepasan obat kombinasi *doxorubicin* /zeolit sodalit (SOD)

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Pengembanan *Doxorubicin* pada Zeolit Sodalit (SOD) menggunakan Metode Impregnasi Kering

Sampel *doxorubicin* langsung dapat digunakan tanpa perlakuan awal. Pengembanan senyawa *doxorubicin* ke dalam zeolit sodalit (SOD) dilakukan dengan mencampur antara keduanya menggunakan metode impregnasi kering sesuai dengan penelitian Vilaca dkk., (2013). Sebelum digunakan zeolit sodalit (SOD) dikeringkan terlebih dahulu pada suhu 105°C. Pengembanan dilakukan dengan variasi sebagai berikut:

*Doxorubicin* 5 mg/2,5 mL : 5 mg zeolit sodalit (SOD)

*Doxorubicin* 5 mg/2,5 mL : 10 mg zeolit sodalit (SOD)

*Doxorubicin* 5 mg/2,5 mL : 15 mg zeolit sodalit (SOD)

Kemudian masing-masing campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dalam (300 rpm) selama 48 jam pada suhu kamar. Hasil pengembanan *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 12 jam. Selanjutnya sampel zeolit sodalit (SOD) dan hasil pengembanan tersebut dianalisis dengan menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Kemudian diuji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D dengan metode MTT (secara *in-vitro*) dan dianalisis kemampuan pelepasan obat dari campuran *doxorubicin* dan zeolit sodalit (SOD).

### 3.5.2 Analisis Menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)

Karakterisasi dengan FTIR dilakukan pada zeolit sodalit (SOD), *doxorubicin* dan hasil impregnasi. Cuplikan dihaluskan menggunakan mortal batu *agate* sampai menjadi *powder* yang halus dengan dicampurkan padatan KBr. Sampel kemudian ditempatkan pada preparat dan dipres untuk membentuk pelet. Pelet selanjutnya ditempatkan pada *sample holder* dan dianalisis menggunakan FTIR pada bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.5.3 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT dilakukan melalui 4 tahap utama sebagai berikut (CCRC, 2009):

#### 3.5.3.1 Kultur Sel

##### a. *Persiapan Alat*

Tahap pengujian harus menggunakan alat-alat dengan keadaan bersih dan steril. Dipersiapkan wadah plastik dengan aturan satu kali pemakaian yang sterilitasnya terjamin selama kemasan tidak mengalami kerusakan. Seperangkat alat gelas dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit. Kecuali *laminar air flow* yang disterilkan dengan cara disemprotkan etanol 70% dan dilengkapi lampu UV.

##### b. *Penyiapan Sel*

Sel Kanker dikeluarkan dari freezer (-80°C) dan dihangatkan dalam *incubator* pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Setelah sel tersebut mencair, sel dipindahkan kedalam *conical tube* yang telah berisi 10 mL media RPMI, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 5-10 menit. Diperoleh supernatan dan pelet, supernatan (medium) yang diperoleh dibuang, dan pelet (sel

kanker) diambil. Selanjutnya pelet ditambah 4 mL medium komplit, kemudian dimasukkan dalam *culture dish* dan diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 3-4 jam dan kemudian diamati di bawah *inverted microscope* untuk mengidentifikasi apakah terdapat sel yang melekat di dasar *culture dish* dan membentuk lapisan monolayer. Proses penggantian medium pertumbuhan dilakukan dua hari sekali dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70-85%, maka siap untuk dilakukan sub kultur sel atau panen sel.

Tahap pada panen sel dilakukan dengan dibuang medium dalam *culture dish* dengan mikropipet, kemudian ditambahkan ± 5 mL PBS dan dihomogenkan untuk mencuci sel-sel mati dan dibuang (dilakukan 3 kali pengulangan). Selanjutnya ditambahkan ± 1-2 mL tripsin-EDTA 0,1% untuk melepaskan sel dari *dish* dan diaduk atau digoyang untuk melepaskan ikatan antar sel, kemudian diinkubasi selama ± 3-5 menit pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Setelah itu diamati sel di bawah mikroskop. Waktu inkubasi dapat ditambah (maksimal total 10 menit) bila sel masih menempel pada *culture dish*. Sel yang telah lepas ditambahkan media komplit minimal 5 mL untuk menginaktifkan kerja tripsin dan dihomogenkan menggunakan mikropipet. Kemudian dihitung jumlah sel dengan dimasukkannya 10 µL sel dalam hemositometer dan sel yang tersisa dimasukkan dalam *conical tube* baru dan diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam.

### c. Perhitungan Sel Kanker

Panen sel diambil 10 µL dan dipipetkan ke *hemacytometer*. Diamati dan Dihitung di bawah mikroskop *inverted* menggunakan *counter* untuk mempermudah proses perhitungan. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\Sigma \text{ Sel dihitung} = \frac{\Sigma \text{ sel kamar (a+b+c+d)}}{4} \times 10^4 \dots\dots\dots(3.1)$$

#### d. Peletakan Sel pada Plate

Peletakan sel pada *plate* dilakukan dengan jumlah dan volume terukur menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\Sigma \text{ mL Sel yang dibutuhkan} = \frac{\Sigma \text{ well} \times \Sigma \text{ sel yang digunakan}}{\Sigma \text{ sel panen}} \dots\dots\dots(3.2)$$

Diambil sel kanker yang dibutuhkan, kemudian dimasukkan dalam *conical tube* dan ditambahkan media RPMI hingga total volume 10 mL. Setelah itu dihomogenkan dengan mikropipet dan dimasukkan dalam masing-masing sumuran 100  $\mu$ l, kecuali pada sumuran 12 kolom baris terakhir digunakan sebagai kontrol sel (medium RPMI + sel), dan kontrol MTT. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam.

#### 3.5.3.2 Pembuatan Larutan Uji

Ditimbang sampel sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 100  $\mu$ L *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO). Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex hingga larut sehingga didapatkan larutan stok dengan konsentrasi 100.000  $\mu$ g/mL (ppm).

#### 3.5.3.3 Uji Poliferasi Sel (Uji MTT)

##### a. Pemberian Larutan Uji

Plat uji berisi sel yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil dan dibuang media di dalamnya dengan cara membalikkan plat uji hingga 180° diatas tempat buangan kemudian ditekan pelan di atas tisu guna meniriskan sisa cairan yang ada. Selanjutnya 100 mL PBS dimasukkan di setiap sumuran yang terisi sel untuk

mencuci dan membuang sel mati, dibuang PBS tersebut dengan cara yang sama. Kemudian sel uji dibagi menjadi 3 bagian digunakan untuk 3 kali pengulangan.

Setelah itu dimasukkan media komplit hingga total volume 1000  $\mu\text{L}$  pada baris pertama di setiap sumuran, dan sumuran baris kedua hingga akhir diisi media sel sebanyak 500  $\mu\text{L}$ . Lalu dimasukkan larutan stok sampel sebanyak 10  $\mu\text{L}$  ke dalam sumuran baris pertama dan penambahan sampel selanjutnya dilakukan secara bertingkat dengan memindahkan 500  $\mu\text{L}$  dari sumuran pertama ke sumuran kedua, dari sumuran kedua ke sumuran ketiga dan seterusnya sehingga diperoleh larutan pada sumuran tiap kolom berkonsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625  $\mu\text{g/mL}$ . Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam dan diamati perubahan yang terjadi.

#### *b. Pemberian Larutan MTT*

Media pada plat berisi sel yang telah diinkubasi dengan larutan uji dibuang dengan cara yang sama dan dicuci menggunakan PBS sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tiap sumuran dan dibuang serta ditiriskan dengan cara yang sama pula. Selanjutnya diambil sebanyak 500  $\mu\text{L}$  larutan MTT 5 mg/mL dan diencerkan dengan medium komplit hingga mencapai volume 5 mL. Kemudian dimasukkan dalam tiap sumuran sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dan diinkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 3-4 jam (sampai terbentuk endapan ungu kristal formazan). Setelah itu ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  SDS 10% dalam 0,01 N HCl untuk melarutkan kristal formazan dan *plate* disimpan dalam box tertutup dengan suhu kamar. Kemudian diukur serapannya dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 550-600 nm (595 nm).

### 3.5.3.4 Analisis Data

*Doxorubicin*, zeolit sodalit (SOD), dan kombinasi *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) memiliki kemampuan dalam menghambat sel kanker payudara (T47D). Potensi tersebut dapat diketahui dengan menggunakan ELISA reader. Data absorbansi yang didapatkan dari pengukuran ELISA reader digunakan untuk menentukan persentase sel hidup pada masing-masing sumuran yang juga menentukan nilai IC<sub>50</sub>, untuk menentukan persentase tersebut menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\% \dots\dots\dots (3.3)$$

Keterangan:

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

B= Absorbansi kontrol media (media kultur)

C= Absorbansi kontrol sel (sel + media kultur)

Berdasarkan % sel hidup yang diperoleh dapat dilakukan perhitungan IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> merupakan gambaran efek sitotoksitas yang diberikan oleh fraksi di mana kadar yang dapat menghambat proliferasi sel sebesar 50%. Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dengan menggunakan Ms.Excel dan ditampilkan dalam bentuk grafik *chart type scatter*. Data yang terinput tersebut merupakan hubungan antara konsentrasi dengan prosentase sel hidup. Grafik yang tersedia untuk menentukan harga IC<sub>50</sub> dengan persamaan linear nilai y = 50% pada persamaan regresi dan nilai x yang akan dicari.

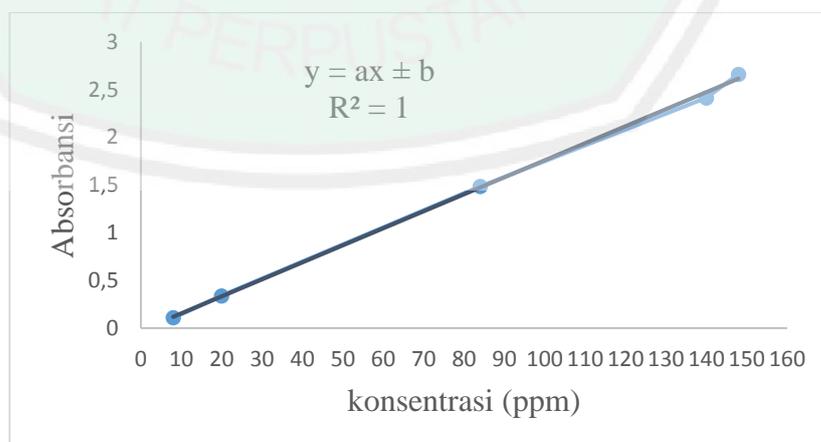
### 3.5.4 Analisis Laju Pelepasan Obat *Doxorubicin*/Zeolit Sodalit (SOD)

Laju pelepasan obat *doxorubicin*/zeolit sodalit (SOD) dapat diketahui dan dipelajari dengan analisis UV-Vis pada panjang gelombang 480 nm. Sampel yang

digunakan adalah sampel DOX/SOD dengan nilai  $IC_{50}$  terbaik. Cairan tubuh yang disimulasikan dibuat dengan menggunakan jumlah yang diketahui dari larutan buffer fosfat. DDS yang telah diketahui dicampur 0,01 gram dalam 5 mL HCl 0,1 N. Campuran dibuat hingga pH 1,2 yang mensimulasikan pH lambung dan 7,4 mensimulasikan pH darah. Campuran diaduk hingga larut dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang ( $37^{\circ}C$ ). Kemudian larutan dicuplik setiap 1 jam selama 24 jam (24 kali cuplikan). Selanjutnya sampel dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 480 nm sehingga dapat diketahui banyaknya *doxorubicin* yang dilepaskan. Hasil absorbansi dibuat kurva sebagai kurva absorbansi dengan pembandingan kurva standar.

#### 3.5.4.1 Analisis Standar *Doxorubicin*

*Doxorubicin* diambil sebanyak 0,02; 0,05; 0,21; 0,35; dan 0,37 mL. Ditambahkan akuades hingga volume total mencapai 5 mL, sehingga diperoleh *doxorubicin* dengan konsentrasi berturut-turut 8; 20; 84; 140; dan 148 ppm. Selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang sama (480 nm) dan hasil absorbansi dibuat kurva absorbansi sebagai kurva standar.



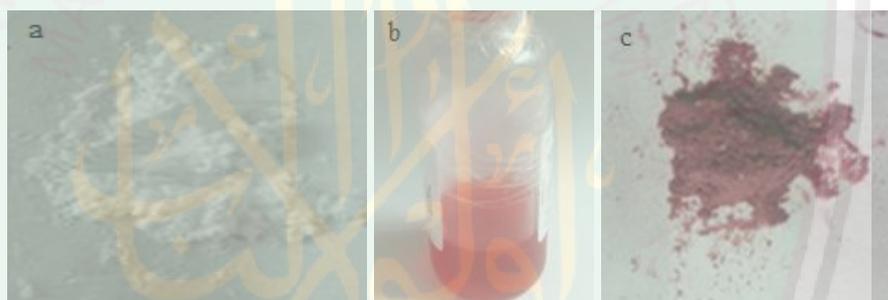
Gambar 3.1 Kurva standar *doxorubicin*

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

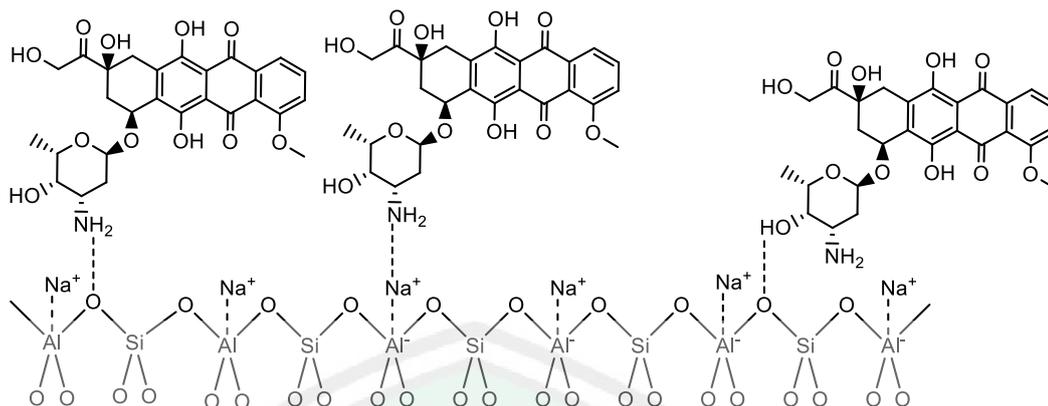
#### 4.1 Karakter *Doxorubicin* yang Diembankan pada Sodalit

Pengembanan *doxorubicin* pada sodalit dilakukan dengan metode impregnasi kering. *Doxorubicin* yang terembankan pada sodalit dapat diketahui secara kualitatif pada Gambar 4.1. Pengembanan yang dilakukan menghasilkan perubahan warna sodalit yang semula serbuk berwarna putih dengan *doxorubicin* berwarna merah maka setelah pengembanan serbuk akan berubah menjadi merah. Hal ini menunjukkan bahwa secara fisik *doxorubicin* telah terembankan.



Gambar 4.1 a) sodalit, b) *doxorubicin* dan c) setelah pengembanan

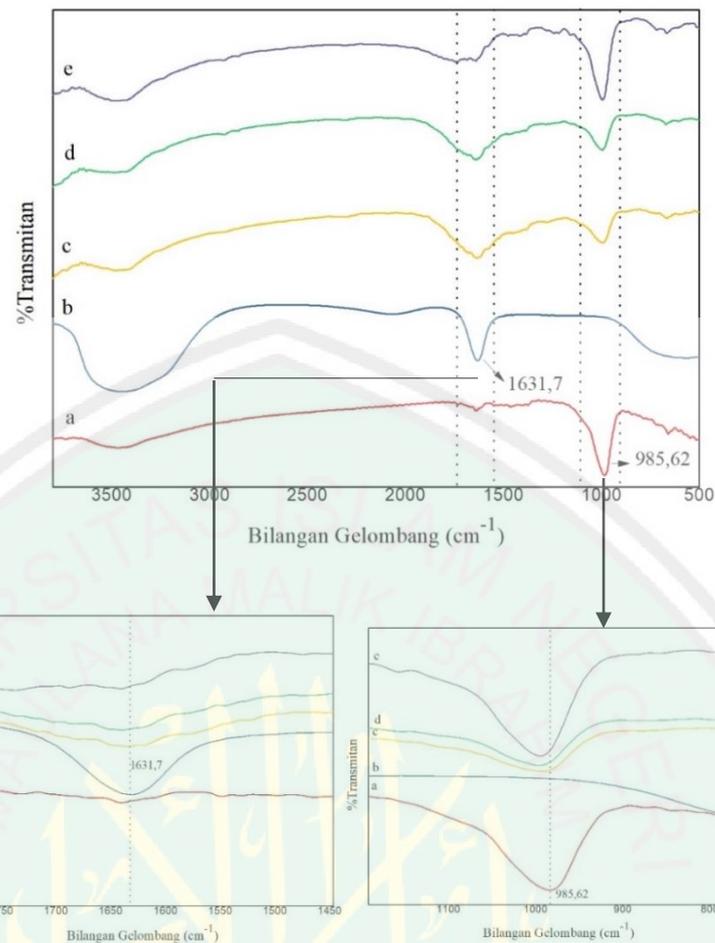
Ukuran molekul senyawa *doxorubicin* dapat diketahui dengan menggunakan aplikasi *hyperchem* yang menghasilkan 13-15 Å. Sodalit memiliki ukuran pori-pori kecil dengan diameter pori 6.31 Å. Ukuran molekul senyawa *doxorubicin* yang lebih besar dibandingkan dengan ukuran sodalit, sehingga dimungkinkan *doxorubicin* menempel pada permukaan pori sodalit. Berikut dapat digambarkan interaksi yang terjadi pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Ilustrasi interaksi antara sodalit dengan *doxorubicin*

Pengembangan *doxorubicin* pada sodalit mengalami interaksi gaya antar molekul yaitu interaksi ion dipol terinduksi dan interaksi hidrogen. Interaksi ion-dipol terinduksi terjadi antara ion dengan dipol terinduksi. Dipol terinduksi merupakan molekul netral dan menjadi dipol akibat induksi partikel bermuatan yang ada didekatnya. *Doxorubicin* memiliki gugus aktif yaitu  $\text{NH}_2$  yang akan mengalami interaksi dengan ion  $\text{Na}^+$  yang berfungsi sebagai kation penyeimbang pada kerangka sodalit. Selain itu terjadi interaksi hidrogen antara atom hidrogen pada molekul senyawa polar *doxorubicin* dengan atom oksigen yang terdapat pada permukaan kerangka sodalit.

Keberhasilan pengembangan *doxorubicin* pada sodalit juga dianalisis dengan FTIR. Keberhasilan tersebut dapat dilihat dengan membandingkan spektrum FTIR sodalit, *doxorubicin*, dan hasil pengembangan. Pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa spektrum FTIR pada sampel setelah pengembangan terjadi penambahan puncak baru. Hal ini menandakan adanya perubahan pada sodalit tunggal dengan sodalit yang mengemban *doxorubicin*.



Gambar 4.3 Spektra FTIR a) Sodalit, b) *Doxorubicin*, c) DOX/SOD 5:5, d) DOX/SOD 5:10, dan e) DOX/SOD 5:15

Spektra FTIR *doxorubicin* tunggal dan *doxorubicin* yang terembankan pada sodalit menunjukkan serapan khas dari *doxorubicin* pada bilangan gelombang  $1631,7 \text{ cm}^{-1}$  yaitu vibrasi ulur dari C=C, dan serapan khas dari sodalit pada bilangan gelombang  $985,62 \text{ cm}^{-1}$  yaitu vibrasi ulur asimetri O-T-O (T=Si atau Al, dan juga serapan gugus -OH pada sodalit dan *doxorubicin* pada bilangan gelombang  $3463 \text{ cm}^{-1}$ . Terjadi pergeseran gelombang serapan gugus -OH pada hasil pengembunan yang disebabkan karena adanya interaksi hidrogen. Interaksi hidrogen yang terjadi yaitu antara atom O dari sodalit dengan atom H pada *doxorubicin*. Interaksi hidrogen ini akan menyebabkan pergeseran bilangan gelombang ke arah yang lebih

kecil sesuai dengan pendapat Gonjo, dkk. (2013) yang menyatakan bahwa interaksi hidrogen antara fenol dengan 4 pelarut yang berbeda yaitu n-heksan,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$ , dan  $\text{CH}_2\text{CH}_2$  akan menggeser bilangan gelombang ke arah yang lebih kecil akibat adanya interaksi hidrogen.

Perbedaan spektra juga terlihat pada intensitas serapan khas sodalit pada hasil pengembanan yang semakin tinggi dari perbandingan 5:5, 5:10, dan 5:15. Hal ini karena jumlah sodalit yang digunakan semakin banyak sehingga vibrasi gugus O-T-O yang terjadi semakin besar. Berbanding terbalik dengan intensitas serapan khas *doxorubicin* yang semakin rendah. Hal ini diasumsikan adanya interaksi *doxorubicin* terhadap sodalit yang semakin kecil sehingga intensitas serapannya berkurang. Berikut interpretasi spektra FTIR pada sodalit, *doxorubicin*, dan sampel setelah pengembanan.

Tabel 4.1 Interpretasi spektra FTIR sodalit, *doxorubicin*, dan hasil pengembanan DOX/SOD

Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )					
SOD	DOX	DOX/SOD 5:5	DOX/SOD 5:10	DOX/SOD 5:15	Vibrasi
3468	3468	3468	3468	3468	regangan O-H
-	1631,7	1633,7	1637,5	1639,49	C=C terkonjugasi
985,62	-	987,55	993,33	993,33	regangan asimetris O-T-O
659,65	-	665,43	669,29	665,43	regangan simetris O-T-O

#### 4.2 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

Uji aktivitas antikanker dilakukan untuk mengetahui potensi sampel uji kombinasi *doxorubicin* dengan sodalit dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh sel kanker. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara (T47D) sesuai dengan penelitian Aka dan Lin (2012) yang membandingkan antara sel T47D dan MCF7 secara proteomik. Sel T47D memiliki protein terlibat dalam

stimulasi pertumbuhan sel, mekanisme apoptis dan kanserogenesis lebih kuat dibandingkan dengan MCF7 yang dilakukan secara *in-vitro* menggunakan metode MTT (*Methylthiazol Tetrazolium*). Prinsip kerja metode MTT adalah mengukur aktivitas dehidrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang memiliki kemampuan untuk mengkonversi MTT menjadi formazan. Pengujian dilakukan secara *in-vitro* ini menggunakan biakan sel (*cell line*) yang memiliki kelebihan dibandingkan dengan pengujian secara *in-vivo* yakni bahan uji yang digunakan lebih sedikit dan waktu pengujian relatif lebih singkat. Proses uji aktivitas antikanker secara *in-vitro* melalui beberapa tahapan, yaitu: 1) Kultur sel, 2) Pembuatan larutan uji, 3) Uji proliferasi sel (uji MTT), dan 4) Analisis data.

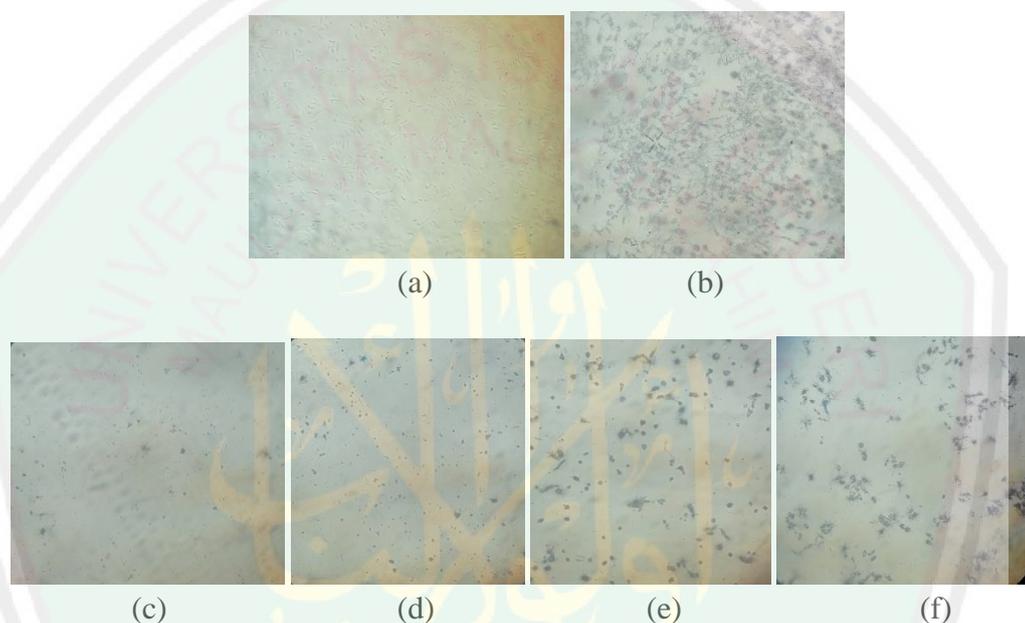
Tahap kultur sel meliputi pengaktifan sel yang telah ditidurkan (*inaktif* sel) dan ditumbuhkan dalam medium RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) hingga konfluen sampai menutupi *cover glass*. Sel yang konfluen ditunjukkan dengan sel yang berkembang dan menempel memenuhi wadah kultur (Djati, 2006). Menurut Bambang (2009) media kultur berfungsi sebagai sumber nutrisi dan respirasi pada sel yang dibiakkan agar dapat tumbuh. Media kultur yang digunakan mengandung antibakteri yaitu penisilin dan streptomycin, obat antijamur amphotericin B, FBS dan media RPMI. Penambahan antibakteri dan antijamur untuk meminimalisir kontaminasi sel oleh bakteri dan jamur selama masa kultur. *Fetal Bovine Serum* (FBS) adalah serum fetus sapi yang berfungsi untuk mendukung pertumbuhan sel agar berlangsung optimal (Andiana, dkk., 2017). Media RPMI digunakan karena didalamnya terkandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan, yaitu asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan glukosa (Freshney, 1986).

Panen sel dilakukan ketika sel sudah konfluen. Prinsip dari panen sel adalah melepaskan ikatan antar sel tanpa merusak sel (CCRC, 2009). Tahap panen sel ditunjukkan bahwa sel akan menempel pada dasar wadah kultur (*culture dish*) karena memiliki sifat adesif yaitu mampu melekat pada substrat (A'illah, 2015). Sel dipanen dengan melepaskan sel yang menempel ditambahkan tripsin-EDTA. Menurut Doyle, dkk. (2000) penambahan tripsin akan melepaskan interaksi antara molekul glikoprotein dan proteoglikan dengan permukaan *dish*, sehingga kemampuan sel untuk melekat pada permukaan *dish* akan hilang dan terlihat mengapung. Tahap selanjutnya adalah perhitungan sel dengan menggunakan *hemacytometer* dan pengamatan di bawah mikroskop *inverted* untuk mengetahui konsentrasi sel yang akan digunakan untuk bahan uji toksisitas. Hasil perhitungan didapatkan jumlah sel yang dibutuhkan untuk membuat suspensi sel uji dengan jumlah suspensi sel kanker tiap sumuran 100  $\mu\text{L}$  pada *plate 96 well* menggunakan persamaan 3.2 adalah sebanyak 1,16 mL. Sel kanker ditambahkan media kultur hingga total volume 10 mL untuk memenuhi jumlah suspensi sel yang dibutuhkan dalam satu plat uji.

Tahap selanjutnya adalah pembuatan larutan uji. Syarat sampel yang digunakan sebagai bahan uji ke dalam kultur sel harus larut dalam media kultur sehingga dapat dibantu dengan penambahan DMSO. Dimetilsulfoksida (DMSO) yang memiliki rumus  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$  merupakan cairan tak berwarna dan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar (Morshed, dkk., 2012). Penelitian ini menggunakan 4 variasi yaitu 25; 12,5; 6,25; dan 3,125  $\mu\text{g/mL}$ .

Tahap uji proliferasi sel (uji MTT) sel dilakukan dengan meletakkan larutan uji sampel dalam masing-masing sumuran. Setiap konsentrasi larutan uji dilakukan

3 kali pengulangan untuk mendapatkan hasil pengukuran yang akurat. Tahap ini plat berisikan sel kanker T47D dengan larutan uji kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk memaksimalkan reaksi sel terhadap perlakuan yang diberikan. Pengamatan morfologi sel setelah *ditreatment* dilakukan di bawah mikroskop *inverted* pada setiap sampel kombinasi. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Morfologi (a) sel T47D, (b) sel T47D setelah pemberian MTT, (c) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 25  $\mu\text{g/mL}$ , (d) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 12,5  $\mu\text{g/mL}$ , (e) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 6,25  $\mu\text{g/mL}$ , (f) sel T47D + sampel (5:5) + MTT konsentrasi 3,125  $\mu\text{g/mL}$ .

Morfologi sel hidup terlihat lonjong dan sel mati terlihat bulat, berwarna gelap, tersebar dan mengapung. Aktivitas antikanker dapat juga diketahui secara kualitatif dengan kasat mata berdasarkan perubahan warna setelah pemberian reagen MTT. Reagen MTT digunakan untuk mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam *Methylthiazol Tetrazolium* (MTT) membentuk kristal formazan

berwarna biru keunguan (Mo sman, 1983). Sel yang hidup dapat mengadsorpsi reagen MTT. Reagen MTT akan bereaksi dengan sel yang kemudian dihentikan dengan penambahan *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl sebagai penghambat pembentukan kristal sebelum dianalisis (A'illah, 2015), sehingga reagen MTT yang awalnya berwarna kuning berubah menjadi ungu, sedangkan sel yang mati akan tetap berwarna kuning.

Intensitas warna yang dihasilkan dapat ditentukan nilai absorbansinya menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Panjang gelombang tersebut digunakan karena warna yang tampak pada larutan adalah ungu yang akan menyerap warna kuning dari spektra sinar tampak (Effendy, 2007). Data absorbansi yang dihasilkan berkorelasi dengan jumlah viabilitas sel (kehidupan sel), artinya dari nilai tersebut dapat diketahui potensi sampel dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D), semakin besar nilai absorbansi menunjukkan semakin banyak sel hidup. Nilai absorbansi tersebut digunakan dalam tahap analisis data untuk menghitung persen hidup sel dan dianalisis menggunakan program Microsoft Excel melalui persamaan regresi linier dari grafik konsentrasi (x) dan persentase sel hidup (y) untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  masing-masing sampel uji yang dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai  $IC_{50}$  uji aktivitas antikanker

Sampel	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b><i>Doxorubicin</i></b>	21,00
<b><i>Doxorubicin: zeolit sodalit (SOD) [5:5]</i></b>	2,26
<b><i>Doxorubicin: zeolit sodalit (SOD) [5:10]</i></b>	2,45
<b><i>Doxorubicin: zeolit sodalit (SOD) [5:15]</i></b>	4,13

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa hasil  $IC_{50}$  sampel uji *doxorubicin* tunggal dan *doxorubicin* yang diembankan ke dalam sodalit memiliki nilai  $IC_{50} < 30$

$\mu\text{g/mL}$ . Sehingga dapat diketahui bahwa *doxorubicin* tunggal dan *doxorubicin* yang diembankan pada sodalit dalam penelitian ini memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D. Sodolit berperan sebagai senyawa pengemban karena memiliki pori dan luas permukaan dengan sisi aktif yang mampu berinteraksi dengan senyawa polar yang diembankan.

Sampel uji yaitu *doxorubicin* yang diembankan ke dalam sodalit pada perbandingan 5:5 memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  paling rendah yang tergolong lebih aktif dalam menghambat sel kanker payudara (T47D) yaitu  $2,26 \mu\text{g/mL}$ . Hasil uji *doxorubicin* tunggal sebagai kontrol obat didapatkan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar  $21,00 \mu\text{g/mL}$ . Nilai  $\text{IC}_{50}$  pada perbandingan DOX/SOD 5:5, 5:10, dan 5:15 semakin tinggi sebesar  $2,26 \mu\text{g/mL}$ ;  $2,45 \mu\text{g/mL}$ ; dan  $4,13 \mu\text{g/mL}$ . Hal ini didukung dengan spektra FTIR. Hasil spektra FTIR yang menunjukkan intensitas puncak khas *doxorubicin* paling tinggi dan paling rendah untuk serapan khas sodalit ialah pada perbandingan 5:5. Berdasarkan hasil  $\text{IC}_{50}$  tersebut dengan jumlah *doxorubicin* tetap dan jumlah sodalit yang semakin banyak dapat meningkatkan nilai  $\text{IC}_{50}$ .

Menurut Divband, dkk. (2018) menyatakan bahwa material pengemban yaitu sodalit memiliki permukaan yang besar namun tidak sepenuhnya akan terisi. Berdasarkan pernyataan tersebut dengan jumlah yang tetap dan jumlah sodalit yang semakin banyak dimungkinkan sodalit yang terisi maksimal pada perbandingan sama 5:5 karena ruang permukaan yang lebih sedikit sehingga lebih dimungkinkan banyak *doxorubicin* yang berinteraksi secara maksimal. Berbeda dengan jumlah sodalit yang lebih banyak dengan ruang permukaan yang lebih banyak maka kemungkinan terisi penuh akan sedikit sehingga tidak efektif dalam menghambat sel kanker. Menurut Amorim, dkk. (2012) dan Vilaca, dkk. (2013) pengembanan

obat pada zeolit dapat menambah tingkat efisiensi obat tersebut. Hal ini karena zeolit berperan sebagai DDS yang mampu mengontrol pelepasan obat secara perlahan, dan menambah bioavailabilitas obat (jumlah obat yang dapat mencapai sirkulasi sistemik setelah pemberian dosis tertentu).

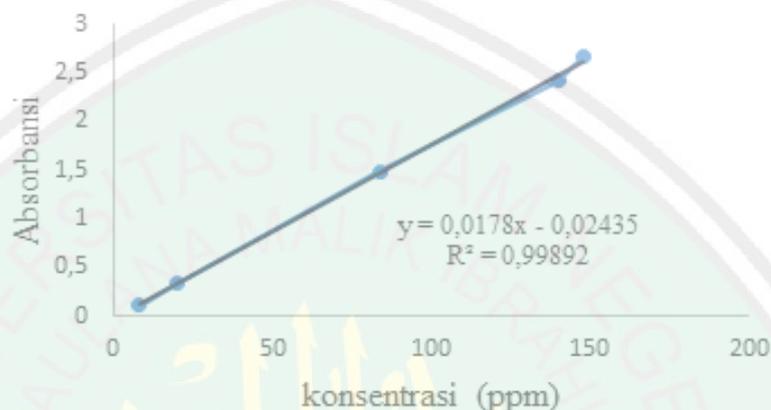
#### 4.3 Analisis Laju Pelepasan Obat Kombinasi *Doxorubicin* pada Sodalit

Analisis laju pelepasan obat pada penelitian ini dilakukan pada sampel kombinasi DOX dan sodalit dengan nilai  $IC_{50}$  terbaik. Sampel kombinasi dengan nilai  $IC_{50}$  terbaik yaitu pada perbandingan 5:5 dengan nilai 2,26  $\mu\text{g/mL}$ . Sampel tersebut diuji pelepasan obat secara *in-vitro* dalam medium yang dikondisikan menyerupai pH lambung (pH 1,2) dan pH darah (pH 7,4) pada suhu 37°C, dengan laju pengadukan 100 rpm. Analisis laju pelepasan obat dilakukan untuk mengetahui efektivitas sodalit sebagai matriks pengemban obat dan agen pengontrol laju pelepasan obat. Tahap ini dilakukan selama 24 jam dengan interval waktu tertentu sesuai dengan uji toksisitas sampel terhadap sel kanker payudara (T47D) yang dilakukan selama 24 jam.

Analisis laju pelepasan *doxorubicin* pada sampel uji menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 480 nm. Sebelum digunakan, buffer harus dipastikan pH-nya terlebih dahulu karena menurut Yurika (2012) perubahan pH larutan akan mempengaruhi hasil analisis Spektrofotometer UV-Vis seperti perubahan serapan dan panjang gelombang maksimum pada sampel uji. Hasil yang diperoleh adalah nilai absorbansi. Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dapat diketahui konsentrasi sampel yaitu perbandingan nilai absorbansi sampel dengan larutan standar *doxorubicin*. Hasil absorbansi larutan standar

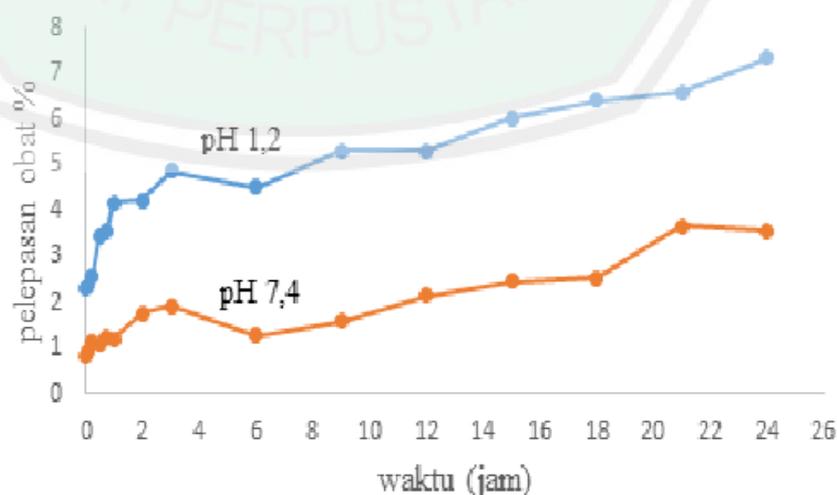
*doxorubicin* diperoleh dari kurva standar pada Gambar 4.5 yang menghasilkan persamaan  $y = 0,0178x - 0,0243$  dengan nilai  $R^2$  sebesar 0,99892.

Analisis sampel DOX/SOD dalam HCl 0,1 N dengan kondisi pH lambung (pH 1,2) dan pH darah (pH 7,4) menghasilkan nilai absorbansi yang berbeda. Perbedaan persentase pelepasan *doxorubicin* dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.5 Kurva standar *doxorubicin*

Nilai absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi *doxorubicin* yang dilepaskan oleh sodalit. Sampel DOX/SOD pada pH 1,2 *doxorubicin* yang terlepas dari sodalit sebesar 7,34% sedangkan pada pH 7,4 sebesar 3,58% selama 24 jam. Persentase *doxorubicin* yang terlepas pada pH asam lebih besar dibandingkan pada pH netral, artinya kondisi keasaman memengaruhi pelepasan *doxorubicin*.



Gambar 4.6 Persentase pelepasan *doxorubicin* dari sodalit selama 24 jam

Menurut Li, dkk (2018), tingkat keasaman menentukan pelepasan *doxorubicin* sebagai hidroklorida larut dalam air (DOX.HCl) yang bersifat tidak stabil pada kondisi netral (pH 7,4). Sampel DOX/SOD pada perbandingan nilai IC<sub>50</sub> terbaik yaitu 5:5, menghasilkan persentase laju pelepasan yang rendah selama 24 jam menandakan bahwa *doxorubicin* yang lepas terkontrol secara perlahan sehingga memungkinkan akan mencapai sel target dan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D. Menurut Dadsetan, dkk. (2013) persentase *doxorubicin* yang terlepas secara maksimal (> 50%) dari meterial pembawa setelah 15 hari. Adanya pengontrol laju pelepasan senyawa secara perlahan, efek terapetik dapat dicapai lebih lama dan efek samping dari obat akibat dosis yang relatif tinggi dapat berkurang. Penelitian ini didukung beberapa penelitian antara lain dalam penelitian Laila (2016) dan Lilbaiq (2017) yang menggunakan zeolit sebagai pengemban obat. Menurut Vilaca., dkk. (2013) keuntungan zeolit sebagai pengemban dapat mencegah degradasi obat, dan tidak memberikan efek toksik terhadap tubuh.

#### 4.4 Hasil Penelitian dalam Prespektif Islam

Kanker adalah salah satu penyakit yang berbahaya di dunia. Penderita kanker tertinggi di Asia pada wanita adalah kanker payudara. Perkembangan zaman membuat banyak masyarakat mencoba obat alternatif maupun medis untuk mendapat kesembuhan. Segala macam penyakit pasti ada obatnya, hal tersebut diterangkan dalam hadist maupun kitab suci Al-Qur'an. Hadist yang menjelaskan tentang hal tersebut yaitu:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

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

Imam Muslim merekam sebuah hadits dai Jabir bin ‘Abdullah ra, dari Rasulullah SAW, bahwasannya beliau bersabda,

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ أَبَدًا لِلَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “*Setiap penyakit ada obatnya. Apabila obat itu tepat untuk suatu penyakit, penyakit itu akan sembuh dengan seizin Allah ‘Azza Wa Jalla*”.

Al-Qur’an adalah kitab yang berisi kalam Allah sebagai pedoman hidup bagi manusia di dunia dan akhirat, memberikan dalil yang berisi hikmah dan kekuasaannya bahwa Allah Maha Bijaksana dalam menciptakannya. Segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah tidak akan sia-sia. Ia adalah buku induk ilmu pengetahuan, di mana tidak ada satu perkara yang terlewatkan, semuanya tercantum didalamnya mulai dari aspek kehidupan manusia dengan Allah (Hablum minallah), sesama manusia (Hablum minannas), atau alam, lingkungan, dan sebagainya (Hablum minalalam). Hal ini terdapat dalam firman Allah Q.S Al-imran Ayat 190-191

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ آيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

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 keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi seraya berkata: “Ya Rabb, tidaklah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, maka periharalah kami dari siksa neraka”.* (QS. Al-Imran ayat 190-191)

Kata *لأُولِي الْأَلْبَابِ* /Ulul albab (orang-orang yang berakal) yang dimaksud adalah orang-orang yang berfikir, dan mendalami pemahamannya. Salah satu

bentuk pemikiran yaitu dikembangkannya penelitian mengenai obat antikanker yaitu *doxorubicin* yang diembankan pada sodalit yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D). *Doxorubicin* adalah jenis obat antikanker golongan antrasiklin yang masuk dalam golongan obat nonspesifik siklus-sel (*cell cycle nonspecific, CCNS*) yang efektif bekerja mematikan sel-sel yang sedang menjalani siklus sel maupun sedang beristirahat, sedangkan sodalit dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat (DDS) *Drug Delivery System*. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa *doxorubicin* yang diembankan pada sodalit dengan perbandingan tertentu memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) secara *in-vitro*. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam al-Qur'an surah al-Qamar ayat 49.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: “Sungguh, Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.”

Ayat-ayat tersebut telah membuktikan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di alam ini tidaklah sia-sia dan sesuai dengan kadarnya. Nilai  $IC_{50}$  yang paling berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D) yaitu perbandingan 5:5 sebesar 2,26  $\mu\text{g/mL}$  diantara variasi 5:5, 5:10, dan 5:15 karena suatu senyawa dinyatakan aktif memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan sel kanker apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ .

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan yaitu,

1. Karakter *doxorubicin* yang diimbangkan pada sodalit secara kualitatif menghasilkan perubahan warna dari abu menjadi merah dan menggunakan instrumentasi FTIR muncul serapan khas yaitu pada bilangan gelombang  $1631,7 \text{ cm}^{-1}$  vibrasi ulur dari C=C dari *doxorubicin*, dan  $985,62 \text{ cm}^{-1}$  vibrasi ulur asimetri O-T-O (T=Si atau Al) dari zeolit.
2. *Doxorubicin* yang diimbangkan pada sodalit dalam penelitian ini memiliki potensi yang efektif sebagai antikanker sel payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  terbaik perbandingan DOX/SOD 5:5 sebesar  $2,26 \mu\text{g/mL}$ .

#### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji pelepasan obat dengan variasi waktu yang lebih lama (lebih dari 24 jam) untuk mengetahui pelepasan maksimal *doxorubicin* dari sodalit.
2. Perlu dilakukan uji pelepasan ion logam yang terdapat pada zeolit yang dikondisikan pada pH 1,2 dan pH 7,4.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahkam, M. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Membran Nanozeolit Y untuk Aplikasi Pemisahan Gas Metanol-Etanol. *Skripsi*. Depok: Departemen Kimia Universitas Indonesia.
- A'illah, A. F. 2015. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum gracille* Brongn). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang
- Aka, J. A., and Lin, S. 2012. Comparison of Functional Proteomic Analysis of Human Breast Cancer Cell Lines T47D and MCF7. *PLoS ONE*, 7(2): 1-10.
- Amorim. R., Vilaca. N., Mertinho. O., Reis. R.M., Sardo. M., Rocha. J., Fonseca. A. M., Baltazar. F., and Neves. I. C. 2012. Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compounds As Drug Delivery System. *The Journal of Physycal Chemistry*, 116, 2564-25650
- Ash-Shiddieqy, H. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul majid An-Nur*, Jilid 2. Cetakan Kedua. Edisi Kedua. Semarang: Pustaka Rizki Putra
- [ATCC] American Type Culture Collection. 2008. *Cell Biology*. [http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/Product Details/ tabid/ 452/ Cell Biology](http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/CellBiology). Diakses pada tanggal 05 April 2019.
- Auerbach, S., Carrado, K., Dutta, P. 2003. *Hand Book of Zeolite Science and Technology*, Marcel Dekker, Inc., New York.
- Burdall, S. E., Hanby, A. M., Lansdown, M. R. J., and Speirs, V. 2003. Breast Cancer Lines: Friend or Foe?. *Breast Cancer Research*. 5: 89-95.
- Bruton, L., Lazo, J. S., and Parker, K. L. 2005. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, McGrawHill, Lange.
- Baerlocher, C. M. 2007. *Atlas of Zeolite Framework Types Fifth Revised Edition*. Elsevier.
- Basmal, J. A. 2009. *Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Jakarta.
- Chang, R. 2005. *Kimia Dasar Konsep-Konsep Inti*. Jakarta: Erlangga.
- [CCRC] Cancer Chemoprevention Research Center. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Childs, A. C., Phaneuf, S. L., Dirks, A. J., Phillips, T., and Leeuwenburgh. 2002. Doxorubicin Treatment *In-Vivo* Causes Cytochrome Release and

Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2: Bax Ratio, *Cancer Research*, 62:4592-4598.

Crowther. 2001. *The ELISA Guidebook*. New Jersey: Humana Press.

Dadsetan, M., Taylor, K. E., Yong, C., Bajzer, Z., Lu, L., and Yaszemski M. J. 2013. Controlled Release of Doxorubicin from pH-responsive Microgels. *Acta Biomater.* 5438-46

Depkes RI. 2009. *Buku Saku Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*. Jakarta: Ditjen PP & PL.

Diananda, R. 2009. *Panduan Lengkap Mengenal Kanker*. Yogyakarta: Mirza Media Pustaka.

Divband., B, Rashidi., M. R, Khatamian., M, Kazemi, Eslamian., G. R, Gharehaghaj., N, and Dabaghi, Tabriz., F. 2018. Linde Type A and Nano Magnetite/NaA Zeolites: Cytotoxicity and Doxorubicin Loading Efficiency. *Research Acticle: De Gruyter Open*, 21-28

Djati, M. S. 2006. *Teknologi Manipulasi dan Kultur Sel Jaringan Hewan*. Malang: UB Press.

Doyle, A., Griffith, j. B., and Newell, D. G. 2000. *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedur*. Edisi ke III. New York: John Wiley and Son

Effendy. 2007. *Kimia Koordinasi Jilid 1*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Malang.

Freshney, R.I. 1986. *Animal Cell Culture. A Practical Approach*. 1st Ed. IRL Press, Washington D.C.

Ghazi, N. A., Hussain, K. 'Izzati, A., Malek, N. A. N. N., and Hamdan, S. 2013. The Effects of Zeolite X and Y on Cancer Cell Lines. *Journal of Science and Technology*, 33-40.

Georgiev, D., Bogdanov, B., Markovska, I., and Hristov, Y. 2013. A Study on the Synthesis and Structure of Zeolite NaX. *Journal Chemical Technology and Mettalogy*, 48: 168-173.

Gonjo, T., Futami, Y., Morisawa, Y., Wojcik, M. J., and Ozaki, Y. 2011. Hydrogen Bonding Effect on the Wavenumbers and Absorption Intensities of the OH Fundamental and the First, Second, and Third Overtones of Phenol and 2,6-Dihalogenated Phenols Studied by Visible/NearInfrared/Infrared Spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry A*, 115:9845:9853

Han, X., Pan, J., Ren, D., Cheng, Y., Fan, P., and Lou, H. 2008. Naringenin-7-O-Glucoside Protects Against Doxorubicin-Induced Toxicity in H9c2

Cardiomyocytes by Induction of Endogenous Antioxidant Enzymes, *Food and Chemical Toxicology*, 46:3140-3146.

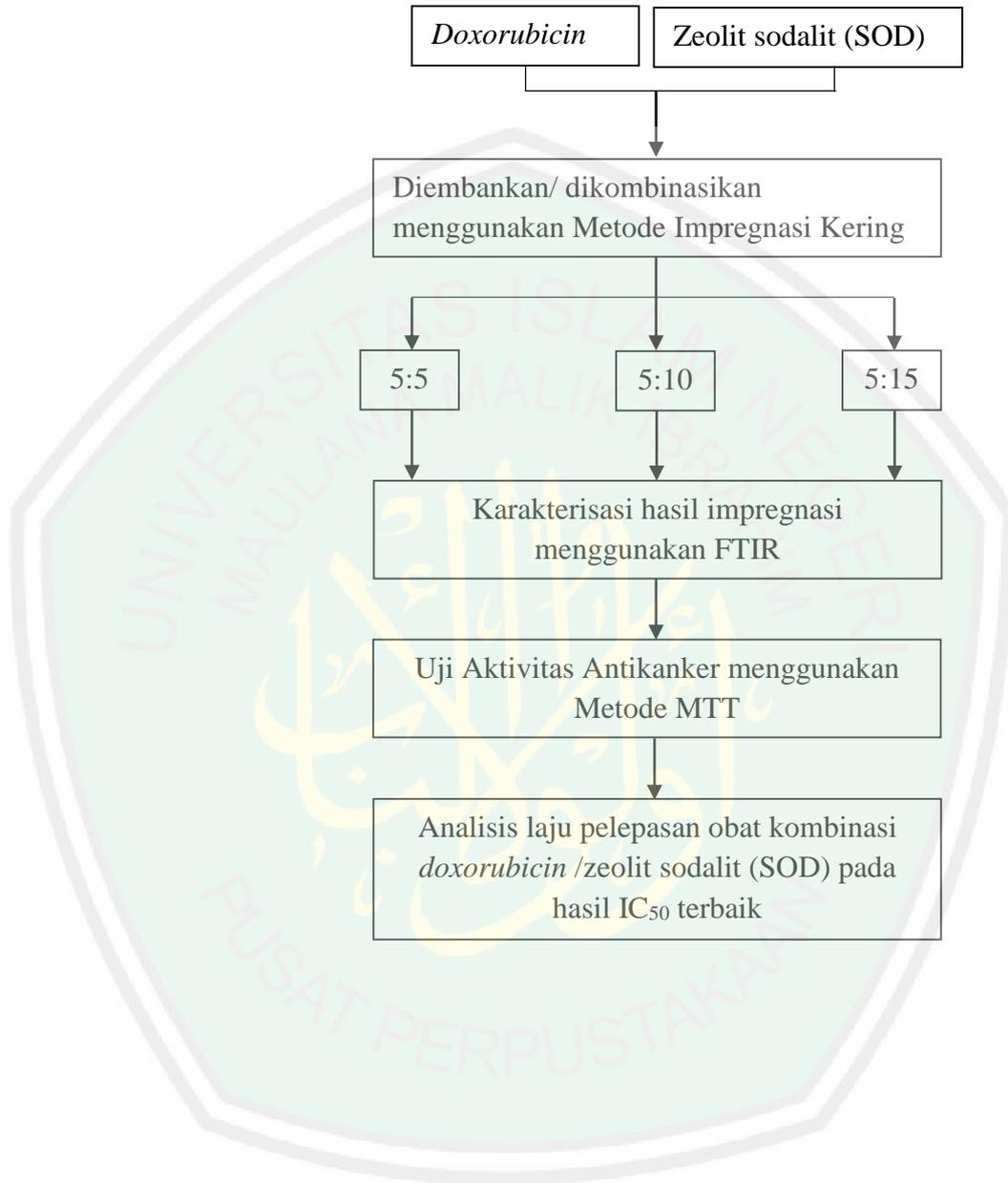
- Hande, K. R. 1998. *Pengembangan Inhibitor Topoisomerase II*. Fakultas Kedokteran Universitas Vanderbilt Dept Onkologi Medis, Pusat Medis Nashville VA, AS.
- Hondermarck, H. 2003. *Breast Cancer Molecular & Cellular Proteomics 2.5*. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Pp. 281-291.
- [IARC] International Agency for Research on Cancer. 2018. *Latest Global Cancer Data*. WHO.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., dan Trevor, A. J. 2013. *Farmakologi Dasar & Klinik, Vol.2, Edisi 12*. Editor Bahasa Indonesia Ricky Soeharsono et al. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Laila, A. K. 2016. Uji Aktivitas Antikanker Payudara T47D Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Amona muricata* Linn) yang Diembankan pada Zeolit NaX. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Li, K., Zhang, Y., Chen, M., Hu, U., Jiang, W., Zhou, L., Li, S., Xu, M., Zhao, Q., and Wan, R. 2018. Enhanced Antitumor Efficiency of Doxorubicin-Encapsulated Halloysite Nanotubes. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 19-30.
- Lilbaq, F. Z. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang Diembankan pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering sebagai Antikanker Payudara T-47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Malang.
- Lusia, O. 2006. *Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya*, ISSN: 1693-9883 Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol III, No. 1, April 2006, 01-07.
- Maharani, S, 2009. *Kanker. Mengenal 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya*. Yogyakarta: Katahati Press
- Meiyanto, M. K. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 23963-23968.
- Minotti, G., Recalcati, S., Menna, P., Salvatorelli, E., Corna, G., and Cairo, G. (2004). Doxorubicin Cardiotoxicity and the Control of Iron Metabolism: Quinone Dependent and Independent Mechanisms. *Method Enzymol* 378:340-361.
- Morshed, H., Islam, Md. s., Parvin, S., Uddin, M. A. G. M., and Sayyed, S. B. 2012. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of the Methanol Extract of (*Peaderia foetida* Linn). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(1): 77-80

- Mosman. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay. *Journal of Immunological Method*. 16. (1-2): 55-63.
- Mozgawa, W., Krol, M., and Barczyk, K. 2011. FT-IR Studies of Zeolites from Different Structural Groups, *CHEMIK*, 65, 667-674.
- Oktaviani, Y. dan Muttaqin, A. 2015. Pengaruh Temperatur Hidrotermal terhadap Konduktivitas Listrik Zeolit Sintetis dari Abu Dasar Batubara dengan Metode Alkali Hidrotermal, *Jurnal Fisika Unand*, Vol. 4, No. 4, Jurusan Fisika Unand, hal. 358-364.
- Pamilih, H. 2009. Uji Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap Sel Kanker Payudara (T-47D) dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Park, K. S., Ni, Z., Cote, A. P., Choi, J. Y., Huang, R., Uribe-Romo, F. U., Chae, H. K., O'Keeffe, M., and Yaghi, O. M. 2006. Exceptional Chemical and Thermal Stability of Zeolitic Imidazolate Frameworks. *PNAS* 103, 10187-10191.
- Rimoli, M. G., Rabaioli, M. R., Melisi, D., Curcio, A., Mondello, S., Mirabelli, R., and Abignente, E. 2007. Synthetic Zeolites as a New Tool for Drug Delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 87: 156-164.
- Rocha, J., Fonseca, A. M., Neves, I. C., and 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.
- Setiawati, A., Susidarti, R. A., dan Meiyanto, E. 2011. Peningkatan Efek Sitotoksik Doxorubicin oleh Hesperidin Pada Sel T47D. *Bionatura – Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. Vol. 13, No. 2: 85 – 92.
- Sari, M. E. F., Suprpto dan Prasetyoko, D. 2018. Synthesis of Sodalite from Kaolin: The Influence of Alkalinity, *Indonesian Journal of Chemistry*, 18, 4: 607-613.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati
- Sibilia, P. 1996. *Guide to Material Characterization and Chemical Analysis, 2<sup>nd</sup> Edition*. New York: John Willey-VCH.
- Smith, L., Watson, M. B., O'Kane, S. L., Drew, P. J., and Lind, M. J. 2006. The Analysis of Doxorubicin Resistance in Human Breast Cancer Cell Using Antibody Microarray. *Molecular Cancer Therapy*, 5(8): 2115-2120.

- 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., and Fatouros, D. G. 2013. Controlled Release of 5-Fluorouracil from Microporous Zeolites. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 1–9.
- Sukardja, I. D. G. 2000. *Onkologi Klinik, Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sukaca B. E. dan Suryaningsih, E. K. 2009. *Kupas Tuntas Kanker Payudara. Paradigma Indonesia*. Yogyakarta: 1-146
- Tambunan. 2003. *Diagnosis dan Tata laksana Sepuluh Jenis Kanker di Indonesia*. Jakarta: EGC.
- Vilaca, N., Amorim, R., Machado, A. F., Parpot, P., Pereira, M. F. R., Sardo, M., Rocha, J., Fonseca, A. M., Neves, I. C., and 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.
- Wakharde A. A., Awad A. H., Baghat A., and Karuppayil, S. M. 2018. Synergistic Activation of Doxorubicin against Cancer: A Review. *American Journal of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. Volume 1.Issue 2.
- [WHO] World Health Organization. 2018. *Latest Global Cancer Data*. International Agency for Research on Cancer
- Xu, R., Wenqin P., Jihong, Y., Qisheng H., and Jiesheng, C. 2007. *Chemistry of Zeolites and Related Porous Materials: Synthesis and Structure*. John Wiley and Sons Asia Singapore
- Zampieri, L., Bianchi, P., Ruff, P., and Arbuthnot, P. 2002. Differential Modulation by Estradiol of Glycoprotein Drug Resistance Protein Expression in Cultured MCF7 and T47D Breast Cancer Cells. *Anticancer Research*, 22: 2253-2259.

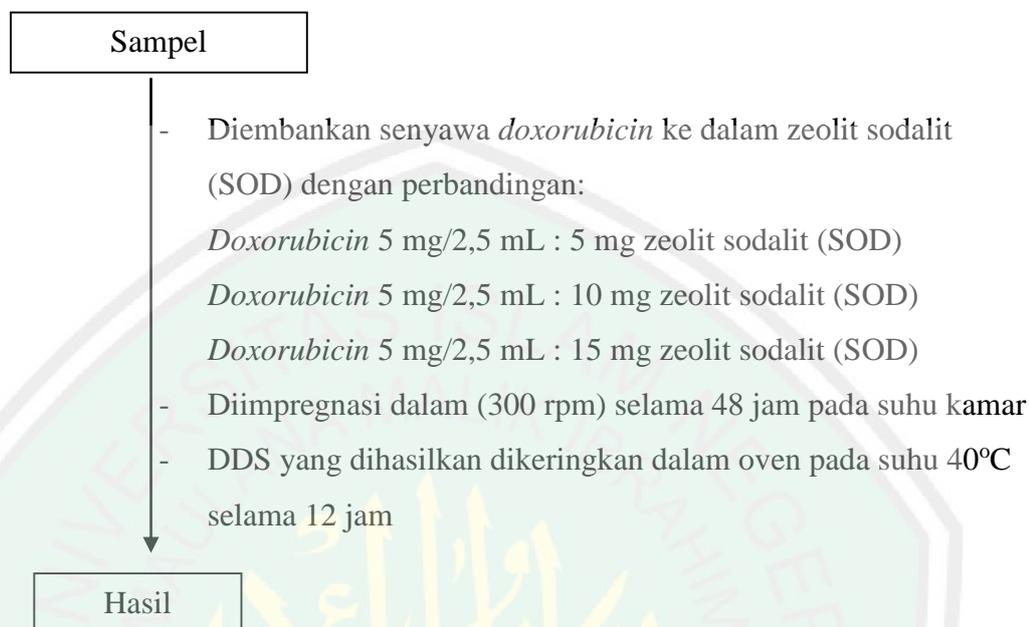
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Tahapan Penelitian

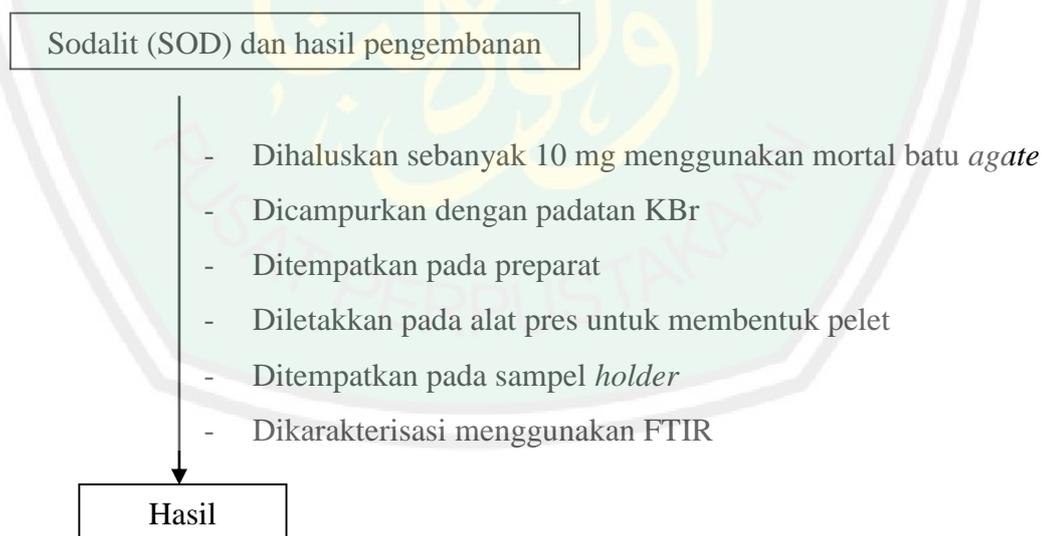


## Lampiran 2. Skema Kerja

### L.2.1 Pengembanan *Doxorubicin* pada Zeolit Sodalit (SOD) Menggunakan Metode Impregnasi Kering



### L.2.2 Analisis Menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)



### L.2.3 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

#### L.2.3.1 Kultur Sel

##### a. Persiapan Sampel

Sel kanker payudara (T47D)

- Dikeluarkan dari freezer (-80°C)
- Dicairkan dalam *incubator* suhu 37°C selama 2-3 menit
- Dipindahkan ke dalam *conical tube* berisi 10 mL media RPMI
- Disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit

Sel kanker (pelet)

Medium (supernatan)

- Ditambahkan 4 mL medium komplet
- Dimasukkan dalam *culture dish*
- Diinkubasi pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub> selama 3-4 jam
- Diamati di bawah mikroskop dan dicek apakah sel menempel di dasar *culture dish* atau membentuk lapisan monolayer
- Diganti medium dua kali sehari
- Jika jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70-85% dilakukan sub kultur

Hasil

**b. Sub Kultur Sel**

Sel kanker payudara (T47D) dalam *culture dish*

- Dibuang medium
- Ditambahkan  $\pm 5$  mL PBS
- Dihomogenkan
- Dibuang kembali
- Ditambahkan  $\pm 300$ -500  $\mu$ L tripsin-EDTA
- Diaduk perlahan
- Dinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub>
- Diamati sel di bawah mikroskop
- Waktu inkubasi ditambah (maksimal total 10 menit) bila sel masih menempel pada *culture dish*
- Sel yang telah lepas ditambahkan media RPMI minimal 5 mL
- Dihomogenkan menggunakan mikropipet
- Dimasukkan dalam *conical tube* baru
- Diinkubasi pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam.

Hasil

**c. Perhitungan Sel Kanker**

Sel kanker payudara (T47D)

- Diambil sebanyak 10  $\mu$ L
- Dimasukkan dalam hemasitometer
- Dilakukan perhitungan sel di bawah mikroskop *inverted*
- Dihitung jumlah sel menggunakan persamaan 3.1

Hasil

**d. Peletakan Sel pada *Plate***

Sel kanker payudara (T47D)

- Diambil sel kanker yang dibutuhkan sesuai persamaan 3.2
- Dimasukkan dalam *plate 96-well*
- Ditambahkan media RPMI hingga total volume 10 mL
- Dihomogenkan dengan mikropipet
- Dimasukkan dalam masing-masing sumuran 100  $\mu$ L, kecuali pada sumuran 12 kolom baris terakhir digunakan sebagai kontrol sel (medium RPMI + sel), kontrol medium (200  $\mu$ L), dan kontrol obat
- Diinkubasi pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam

Hasil

**L.2.3.2 Pembuatan Larutan Uji**

Hasil Pengembanan

- Ditimbang sampel sebanyak 10 mg
- Dilarutkan dalam 100  $\mu$ L *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO)
- Dihomogenkan menggunakan vortex hingga larut

Hasil

### L.2.3.3 Uji Poliferasi Sel (Uji MTT)

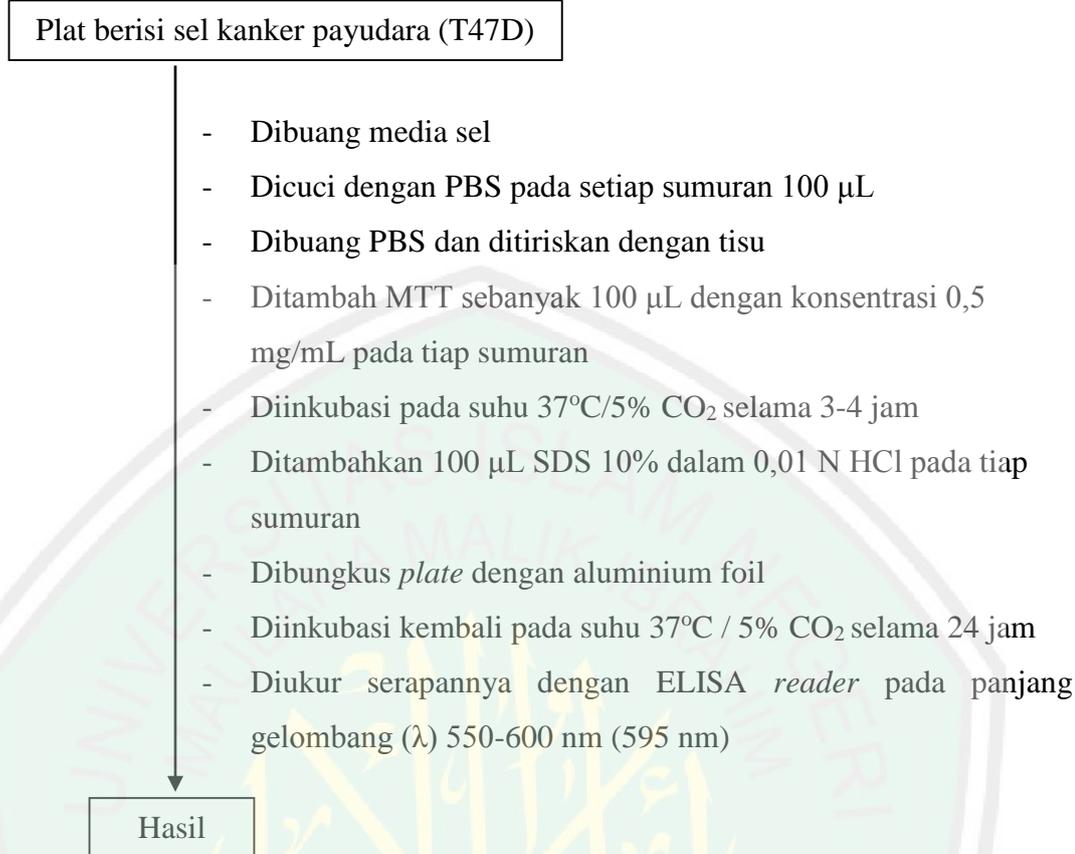
#### a. Pemberian Larutan Uji

Plat uji berisi sel kanker

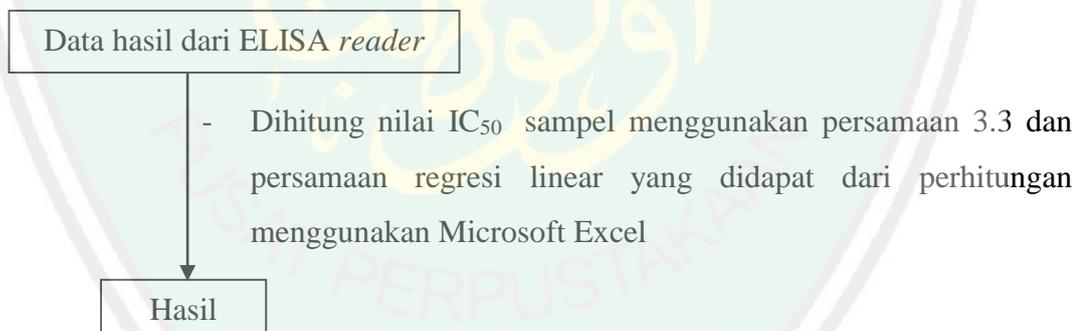
- Diambil dari *incubator*
- Dibuang media sel dengan cara dibalik 180° dan ditiriskan di atas tisu
- Dimasukkan 100 mL PBS di setiap sumuran yang berisi sel
- Dibuang PBS dan ditiriskan dengan tisu
- Dibagi menjadi 3 bagian digunakan untuk 3 kali pengulangan.
- Dimasukkan media komplit hingga total volume 1000 µL pada baris pertama di setiap sumuran, dan sumuran baris kedua hingga akhir diisi media sel sebanyak 500 mL
- Dimasukkan larutan stok sampel sebanyak 10 µL ke dalam sumuran baris pertama dan penambahan sampel selanjutnya dilakukan secara bertingkat dengan memindahkan 500 µL dari sumuran pertama ke sumuran kedua, dari sumuran ke dua ke sumuran ketiga dan seterusnya sehingga diperoleh larutan pada sumuran tiap kolom berkonsentrasi 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 µg/mL.
- Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (triplo)
- diinkubasi pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam, diamati perubahan yang terjadi.

Hasil

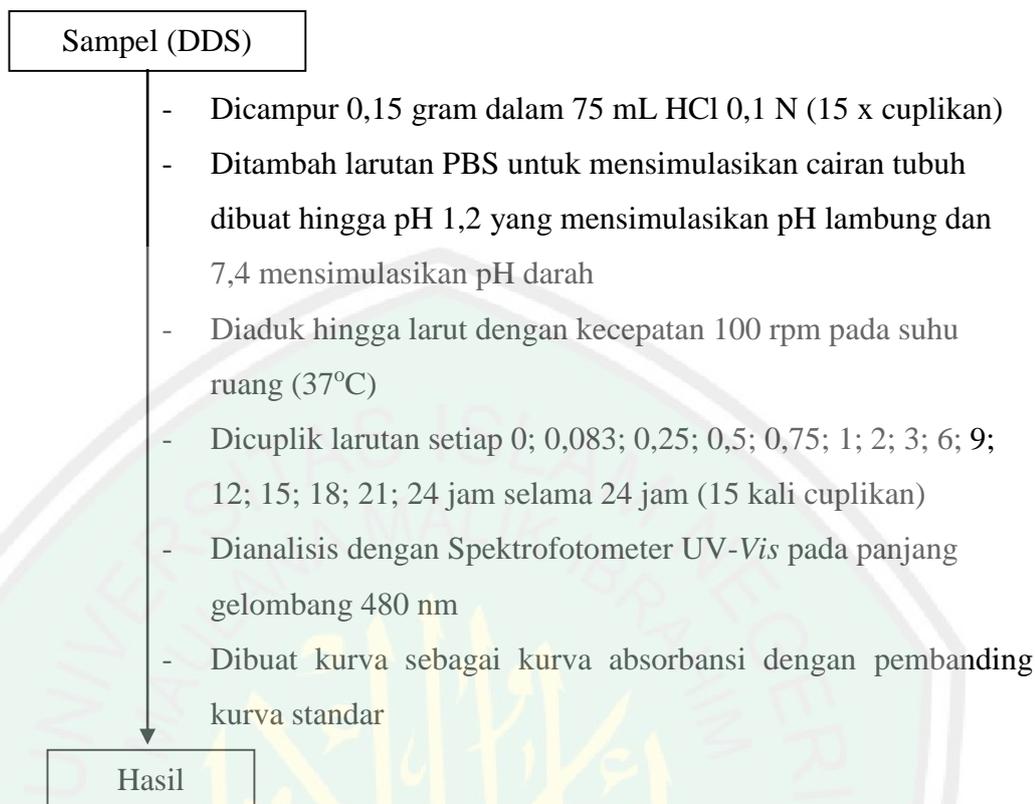
### b. Pemberian Larutan MTT



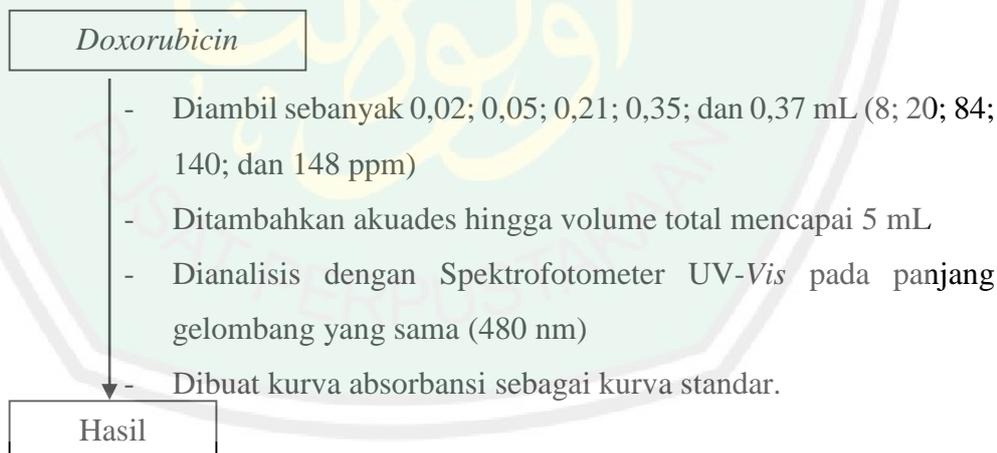
### L.2.3.4 Analisis Data



#### L.2.4 Analisis Laju Pelepasan Obat dari *Doxorubicin*/Zeolit Sodalit (SOD)



##### L.2.4.1 Analisis Standar *Doxorubicin*



### Lampiran 3: Perhitungan dan Pembuatan Larutan

#### L.3.1 Pembuatan Larutan SDS 10% (b/v)

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

Cara pembuatan: SDS (*sodium deodecyle sulphate*) ditimbang 10 mg dan dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL. Akuades sebanyak 100 mL ditambahkan dalam gelas beker. Campuran diaduk hingga larut.

#### L.3.2 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$\rho \text{ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 37 \% = 0,37$$

$$\text{Mr HCl} = 36,45 \text{ g/mol}$$

$$\text{Ekivalen HCl} = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

- Massa HCl =  $\rho \text{ HCl pekat} \times \% \text{ volume}$   
 $= 1190 \text{ g/L} \times 0,37$   
 $= 440,3 \text{ g}$

- Mol HCl =  $\frac{\text{Massa HCl}}{\text{Mr HCl}}$   
 $= \frac{440,3 \text{ g}}{36,45 \text{ g/mol}}$   
 $= 12,08 \text{ mol}$

- Molaritas HCl (M) =  $\frac{\text{Mol HCl}}{\text{Volume HCl}}$   
 $= \frac{12,08 \text{ mol}}{1 \text{ L}}$   
 $= 12,08 \text{ M}$

- Normalitas HCl (N) = ekivalen x M HCl  
 $= 1 \times 12,08 \text{ M}$   
 $= 12,08 \text{ N}$

- $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$   
 $12,08 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$   
 $V_1 = 8,3 \text{ mL}$

Cara membuat 100 mL HCl 1 N adalah diambil 8,3 mL larutan HCl pekat dengan pipet ukur dan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL berisi  $\pm 15 \text{ mL}$

akuades. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

### L.3.3 Pembuatan Larutan Stok MTT

Serbuk MTT ditimbang sebanyak 5 mg, selanjutnya dilarutkan dalam 10 mL PBS dan diaduk hingga homogen.

### L.3.4 Pembuatan Larutan Stok 1.000 ppm Sampel DOX/zeolit

Berat DOX/zeolit sodalit (SOD) = 10 mg

Volume pelarut (DMSO) = 100  $\mu$ L

$$\text{Konsentrasi (ppm)} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \mu\text{L}} = \frac{10.000 \mu\text{g}}{0,1 \text{ mL}} = 100.000 \mu\text{g/mL}$$

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

$$1.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 1 \text{ mL} = 100.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times V_2$$

$$V_2 = \frac{1.000 \mu\text{g}}{100.000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}$$

$$V_2 = 0,01 \text{ mL}$$

$$V_2 = 10 \mu\text{L}$$

Cara pembuatan: Sampel DOX/zeolit yang telah dilarutkan dalam 100  $\mu$ L DMSO diambil sebanyak 10  $\mu$ L menggunakan mikropipet. Selanjutnya ditambahkan media kultur RPMI sebanyak 990  $\mu$ L dan diresuspensi hingga homogen.

### L.3.5 Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 7 (pH darah)

- **Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 M 100 mL**

Diketahui: Mr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> = 142 gr/mol

Caranya:

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000}{v}$$

$$0,1 \text{ M} = \frac{g}{142} \times \frac{1000}{100}$$

$$14,2 = g \times 10$$

$$g = 1,42 \text{ gram}$$

Dilarutkan 1,42 gram Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dengan akuades, kemudian ditandabatkan dengan akuades hingga 100 mL untuk membuat larutan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 M

▪ **NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M 100 mL**

Diketahui: Mr NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 138 gr/mol

Caranya:

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000}{v}$$

$$0,1 M = \frac{g}{138} \times \frac{1000}{100}$$

$$13,8 = g \times 10$$

$$g = 1,38 \text{ gram}$$

Dilarutkan 1,38 gram NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dengan akuades, kemudian ditandabatkan dengan akuades hingga 100 mL untuk membuat larutan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M

Pembuatan larutan buffer fosfat pH 7 dengan cara mencampurkan larutan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 M dan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M hingga pH yang diinginkan yaitu pH 7 yang diukur dengan menggunakan pH meter.

**L.3.6 Pembuatan Standar *Doxorubicin***

Diketahui: *Doxorubicin* 0,05; 0,2; 0,35; 0,5; dan 0,65 mL

Caranya:

*Doxorubicin* 0,05; 0,2; 0,35; 0,5; dan 0,65 mL diencerkan dengan akuades, kemudian ditandabatkan dengan akuades hingga 5 mL, sehingga diperoleh masing-masing konsentrasi 10; 40; 70; 100; dan 130 ppm, berdasarkan rumus berikut:

$$\frac{\text{volume sampel (doxorubicin)}}{\text{volume total}} \times 1000 = \dots \text{ppm}$$

## Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

### L.4.1 Perhitungan hasil pengembangan *doxorubicin* pada zeolit sodalit (SOD) menggunakan metode impregnasi

$$\% \text{ impregnasi} = \frac{\text{berat endapan hasil impregnasi}}{\text{berat awal sebelum impregnasi}} \times 100\%$$

#### a. Kombinasi sampel uji *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) 5:5

Berat *doxorubicin* = 10 mg

Berat zeolit sodalit (SOD) = 10 mg

Berat endapan hasil impregnasi = 61,21 mg

$$\% \text{ impregnasi} = \frac{20 \text{ mg}}{61,21 \text{ mg}} \times 100\% = 32,67\%$$

#### b. Kombinasi sampel uji *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) 5:10

Berat *doxorubicin* = 10mg

Berat zeolit sodalit (SOD) = 20 mg

Berat endapan hasil impregnasi = 61,6 mg

$$\% \text{ impregnasi} = \frac{30 \text{ mg}}{61,6 \text{ mg}} \times 100\% = 48,7\%$$

#### c. Kombinasi sampel uji *doxorubicin* dengan zeolit sodalit (SOD) 5:15

Berat *doxorubicin* = 10 mg

Berat zeolit sodalit (SOD) = 30 mg

Berat endapan hasil impregnasi = 73,2 mg

$$\% \text{ impregnasi} = \frac{40 \text{ mg}}{73,2 \text{ mg}} \times 100\% = 54,64\%$$

### L.4.2 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker terhadap sel T47D secara *in-vitro*

#### A. Perhitungan konsentrasi sel

Kuadran A 85	Kuadran B 84
Kuadran C 77	Kuadran D 99

- **Jumlah sel yang dihitung ( $\text{mL}^{-1}$ )**

$$\begin{aligned}\Sigma \text{ Sel dihitung} &= \frac{\Sigma \text{ sel kamar (a+b+c+d)}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{85+84+77+99}{4} \times 10^4 \\ &= 86,25 \times 10^4 / \text{mL}\end{aligned}$$

- **Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)**

$$\begin{aligned}&= \frac{\text{jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel yang terhitung}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{86,25 \times 10^4} \\ &= 1,16 \text{ mL}\end{aligned}$$

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 1,16 mL, ditambahkan hingga 8,84 mL media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100  $\mu\text{L}$  MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel = 100  $\mu\text{L}$  x 100 sumuran = 1000  $\mu\text{L}$  atau 1 mL (berisi MK 8,84 mL dan sel 1,16 mL).

## B. Perhitungan Persentase Sel Hidup

- **Data Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT**

No.	Absorbansi kontrol sel	Absorbansi kontrol media
1.	0,45	0,13
2.	0,468	0,143
3.	0,466	0,144
4.	0,507	0,134
<b>Rata- Rata:</b>	0,47275	0,13775

### ➤ **Kombinasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:5]**

No.	Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% sel Hidup
		Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1	25	0,197	0,199	0,19	0,19533	17,1891
2	12,5	0,214	0,205	0,214	0,211	21,8657
3	6,25	0,229	0,282	0,294	0,26833	38,9801
4	3,125	0,343	0,311	0,235	0,29633	47,3383

➤ **Kombinasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:10]**

No.	Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% sel Hidup
		Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1	25	0,208	0,19	0,199	0,199	18,2836
2	12,5	0,208	0,199	0,209	0,20533	20,1741
3	6,25	0,265	0,302	0,324	0,297	47,5373
4	3,125	0,309	0,286	0,354	0,31633	53,3085

➤ **Kombinasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:15]**

No.	Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% sel Hidup
		Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1	25	0,201	0,189	0,2	0,19667	17,5871
2	12,5	0,218	0,217	0,209	0,21467	22,9602
3	6,25	0,31	0,31	0,279	0,297	48,3333
4	3,125	0,315	0,334	0,336	0,32833	56,8906

➤ **Kontrol Obat (*Doxorubicin*)**

No.	Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% sel Hidup
		Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1	25	0,304	0,3	0,3	0,31433	48,8309
2	12,5	0,315	0,317	0,311	0,19	52,7114
3	3,125	0,349	0,385	0,362	0,36533	67,9353
4	1,5625	0,407	0,396	0,385	0,396	77,0896

• **Perhitungan Persentase Sel Hidup**

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

Keterangan: A= absorbansi perlakuan (sel+media kultur+sampel)

B= absorbansi kontrol media (media kultur)

C= absorbansi kontrol sel (sel+media kultur)

➤ **Kombinasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:5]**

- ❖ Konsentrasi 25 → %sel hidup =  $\frac{(0,19533 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 17,1891\%$
- ❖ Konsentrasi 12,5 → %sel hidup =  $\frac{(0,211 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 21,8657\%$
- ❖ Konsentrasi 6,25 → %sel hidup =  $\frac{(0,26833 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 38,9801\%$
- ❖ Konsentrasi 3,125 → %sel hidup =  $\frac{(0,29633 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 47,3383\%$

➤ **Kombinasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:10]**

- ❖ Konsentrasi 25 → %sel hidup =  $\frac{(0,199 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 18,2836\%$
- ❖ Konsentrasi 12,5 → %sel hidup =  $\frac{(0,20533 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 20,1741\%$
- ❖ Konsentrasi 6,25 → %sel hidup =  $\frac{(0,297 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 47,5373\%$
- ❖ Konsentrasi 3,125 → %sel hidup =  $\frac{(0,31633 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 53,3085\%$

➤ **Kombinasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:15]**

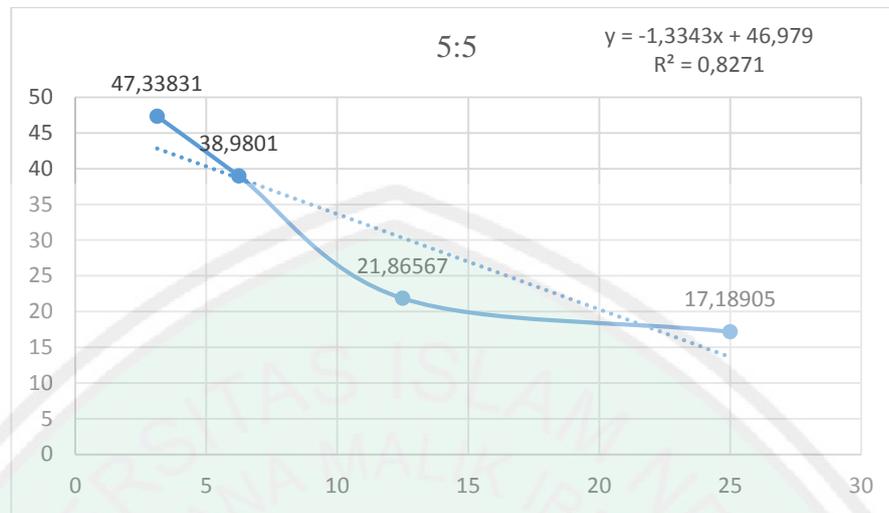
- ❖ Konsentrasi 25 → %sel hidup =  $\frac{(0,19667 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 17,5871\%$
- ❖ Konsentrasi 12,5 → %sel hidup =  $\frac{(0,21467 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 22,9602\%$
- ❖ Konsentrasi 6,25 → %sel hidup =  $\frac{(0,299667 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 48,3333\%$
- ❖ Konsentrasi 3,125 → %sel hidup =  $\frac{(0,32833 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 56,8905\%$

➤ **Kontrol *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:15]**

- ❖ Konsentrasi 25 → %sel hidup =  $\frac{(0,30133 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 48,8308\%$
- ❖ Konsentrasi 12,5 → %sel hidup =  $\frac{(0,31433 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 52,7114\%$
- ❖ Konsentrasi 3,125 → %sel hidup =  $\frac{(0,36533 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 67,9353\%$
- ❖ Konsentrasi 1,5625 → %sel hidup =  $\frac{(0,396 - 0,13775)}{(0,47275 - 0,13775)} \times 100\% = 77,0896\%$

### C. Hasil Perhitungan IC<sub>50</sub> dengan Microsoft Excel

- Hasil Impregnasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:5]



$$y = -1,3343x + 46,979$$

$$50 = -1,3343x + 46,979$$

$$50 - 46,979 = -1,3343x$$

$$3,021 = -1,3343x$$

$$2,26 = x \text{ (IC}_{50}\text{)}$$

- Hasil Impregnasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:10]



$$y = -1,6366x + 54,005$$

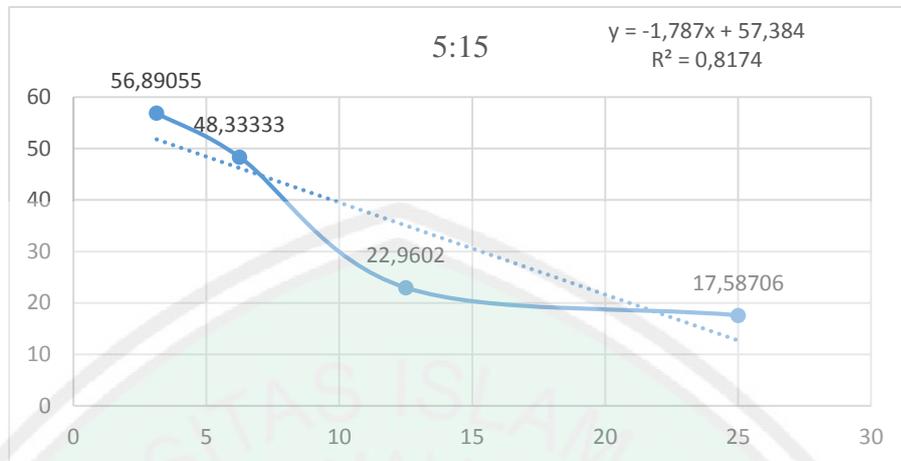
$$50 = -1,6366x + 54,005$$

$$50 - 54,005 = -1,6366x$$

$$-4,005 = -1,6366x$$

$$2,45 = x \text{ (IC}_{50}\text{)}$$

- Hasil Impregnasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD) [5:15]



$$y = -1,787x + 57,384$$

$$50 = -1,787x + 57,384$$

$$50 - 57,384 = -1,787x$$

$$-7,384 = -1,787x$$

$$4,13 = x \text{ (IC50)}$$

- Hasil Kontrol Obat (*Doxorubicin*)



$$y = -1,1136x + 73,387$$

$$50 = -1,1136x + 73,387$$

$$50 - 73,387 = -1,1136x$$

$$-23,387 = -1,1136x$$

$$21,00 = x \text{ (IC50)}$$

### L.4.3 Analisis Laju Pelepasan Obat

$$y = 0,0178 - 0,02435$$

$$R^2 = 0,99892$$

$$\text{Konsentrasi DOX yang terlepas} = \frac{\text{absorbansi} + 0,02435}{0,0178}$$

$$\% \text{ pelepasan obat} = \frac{\text{konsentrasi DOX yang terlepas (ppm)}}{\text{konsentrasi DOX yang diembankan (ppm)}} \times 100\%$$

$$= \frac{\text{konsentrasi DOX yang terlepas (ppm)}}{2000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

#### Uji pelepasan obat pada pH 1,2

No	Waktu (jam)	Absorbansi	konsentrasi (ppm)	pelepasan obat (%)
1	0	0,8028	46,46910112	2,323455
2	0,083	0,8158	47,1994382	2,359972
3	0,25	0,8995	51,90168539	2,595084
4	0,5	1,1995	68,75561798	3,437781
5	0,75	1,2504	71,61516854	3,580758
6	1	1,468	83,83988764	4,191994
7	2	1,4817	84,60955056	4,230478
8	3	1,7105	97,46348315	4,873174
9	6	1,588	90,58146067	4,529073
10	9	1,8688	106,3567416	5,317837
11	12	1,8681	106,3174157	5,315871
12	15	2,1212	120,5365169	6,026826
13	18	2,2636	128,5365169	6,426826
14	21	2,3281	132,1601124	6,608006
15	24	2,589	146,8174157	7,340871

#### Uji pelepasan obat pada pH 7,4

No	Waktu (jam)	Absorbansi	konsentrasi (ppm)	pelepasan obat (%)
1	0	0,2792	17,05337	0,852669
2	0,083	0,3176	19,21067	0,960534
3	0,25	0,3918	23,37921	1,168961
4	0,5	0,3694	22,12079	1,106039
5	0,75	0,4206	24,99719	1,24986
6	1	0,409	24,34551	1,217275
7	2	0,6069	35,46348	1,773174
8	3	0,6644	38,69382	1,934691
9	6	0,4342	25,76124	1,288062
10	9	0,5467	32,08146	1,604073

11	12	0,7496	43,48034	2,174017
12	15	0,8587	49,60955	2,480478
13	18	0,8839	51,02528	2,551264
14	21	1,2811	73,33989	3,666994
15	24	1,2504	71,61517	3,580758

## Lampiran 5. Dokumentasi

### 1. Proses Impregnasi *Doxorubicin* dengan Zeolit Sodalit (SOD)



Sodalit



DOX



Impregnasi



Hasil impregnasi

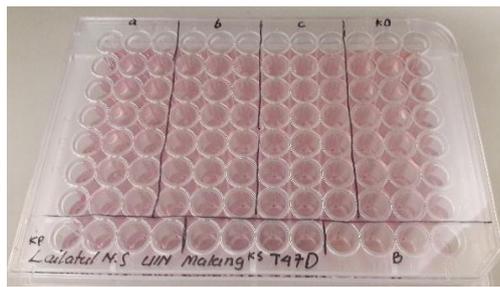
### 2. Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT



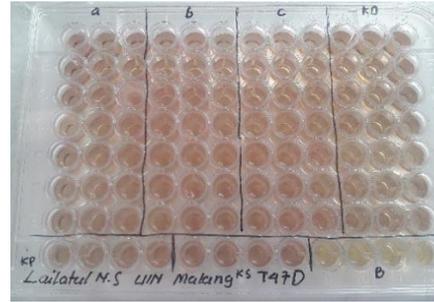
(a)



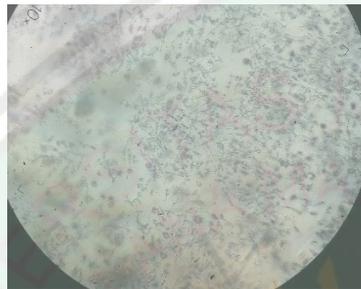
(b)



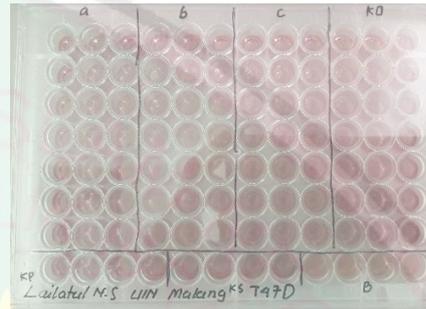
(c)



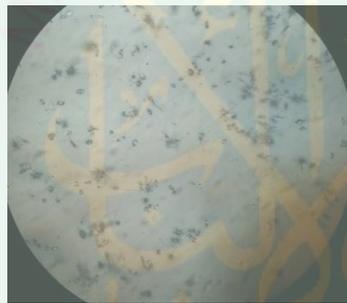
(d)



(e)



(f)



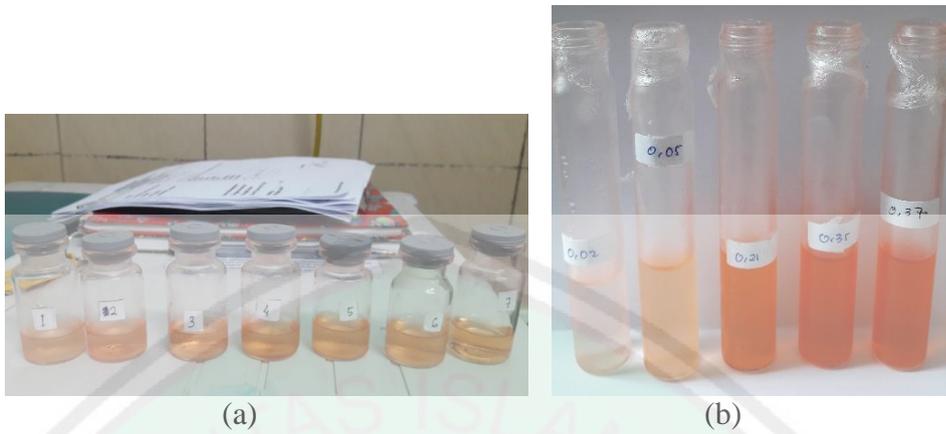
(g)



(h)

Gambar L. 2. (a) kepadatan sel, (b) perhitungan sel menggunakan hemasitometer, (c) peletakan larutan uji, (d) sel kanker payudara T47D setelah perlakuan, (e) ,(f) sel kanker payudara T47D setelah pemberian MTT, (g) morfologi sel setelah perlakuan konsentrasi 3,125 ppm, dan (h) morfologi sel setelah perlakuan konsentrasi 25 ppm.

### 3. Uji Pelepasan Obat DOX/SOD



Gambar L.3. (a) Uji pelepasan obat pada sampel  $IC_{50}$  terbaik (5:5), dan (b) Pembuatan larutan standar *doxorubicin*