

**PELEPASAN DOXORUBICIN (DOX) DARI HIDROKSIAPATIT (HA)
DENGAN VARIASI NILAI pH DAN RASIO DOX-HA / PHOSPHAT BUFFER SALINE
(PBS)**

Nursyaniati¹, Ahmad Fadli², Rozanna Sri Irianty²

¹Mahasiswa Program Studi Teknik Kimia S1, ²Dosen Teknik Kimia
Laboratorium Material dan Korosi
Program Studi Teknik Kimia S1, Fakultas Teknik Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km 12,5 Simpang Baru, Panam,
Pekanbaru 28293

Email: nursyaniati3072@student.unri.ac.id

ABSTRACT

Hydroxyapatite was a material that could be used as drug delivery in cancer by doxorubicin adsorbed on to hydroxyapatites surface. The purpose of this research were to study the effect of variation of pH and ratio DOX-HA : PBS on speed release. HA was suspended in 10 ml of DOX (100 ppm) stirred using a magnetic stirrer with speed 250 rpm at temperature 37°C for 24 hours. After that it filtered at vacuum pressure for 24 hours. The release of DOX from 270 mg HA powder were soaked in 350 ml of solution PBS (pH 5,6 dan 7,4). The samples were taken every two hours until 120 hours. The concentration of DOX's released were analyzed by UV-Vis. Furthermore, the DOX-HA powder were characterized with FTIR. There was HA and DOX function group which meant, there were any DOX's adsorbed and released from HA used powder. If higher pH and more HA powder were used, would effect the released of DOX were more effective. The released in the first 40 hours of DOX concentration released in PBS was maintained at 1,25 and 6,92 ppm for each pH 7,4 and 5,6. While for mass HA variations maintained at 0,625; 3,541; 4,508; and 4,958 ppm for each 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 gram.

Keywords : *doxorubicin, drug delivery, hydroxyapatite, phosphat buffered saline, release.*

1. Pendahuluan

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Menurut Kemenkes RI (2015), sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker. Berdasarkan data riset kesehatan dasar (2013), prevalensi kanker di Indonesia adalah 1,4 per-1000 penduduk, atau sekitar 347.000 orang. Telah banyak terapi dikembangkan untuk pengobatan kanker, antara lain dengan obat-obat seperti *cyclophosphamide, methotrexate, doxorubicin*, dan *fluorouracil*. Beberapa permasalahan muncul dalam penggunaan kemoterapi

konvensional, antara lain adanya efek pada jaringan normal, dan metabolisme obat yang relatif cepat sebelum mencapai lokasi kanker.

Salah satu metode yang dikembangkan dalam upaya mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan pendekatan *nanomedicine* berupa sistem penghantaran obat (*nano drug delivery*). *Nano drug delivery* merupakan metode penghantaran senyawa obat langsung ke target terapi (Juliano dan Akhtar, 1992).

Tujuan sistem pengiriman obat yang terkontrol adalah untuk mencapai sebuah

laju pelepasan konstan, terkendali, dan jangka panjang. Hal tersebut menjadi pemilihan dasar dari pengobatan. Salah satu obat-obat kemoterapi yang bersifat konvensional adalah *Doxorubicin* (DOX) yang diisolasi dari *Streptomyces peucetiusvar caesi* pada tahun 1960-an dan digunakan secara luas (Minotti dkk, 2004).

Salah satu material yang cocok digunakan sebagai *drug delivery* adalah hidroksiapatit dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Hidroksiapatit (HA) merupakan komponen utama dari tulang, sifat-sifat ion kalsium (Ca^{2+}) pada hidroksiapatit dapat mengubah ion-ion logam berat yang beracun dan memiliki kemampuan yang cukup baik dalam menyerap unsur-unsur kimia organik dalam tubuh serta memiliki sifat biokompatibilitas dan bioaktivitas yang baik pula.

2. Metode Penelitian

Bahan baku dalam penelitian ini diantaranya hidroksiapatit (HA) (Lianyungang Kede Chemical Industry Co., LTD.), akuades, Doxorubicin (DOX) HCl 2 mg/ml (*Kalbe Company*), Larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBS).

Sedangkan alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, termometer, *syringe*, *vacuum dryer*, *corong buchner*, labu ukur 10 ml, gelas kimia 10 ml, gelas ukur 5 mL, kertas saring, spatula, pipet tetas, botol sampel, corong, *aluminium foil*, spatula, cawan petri, serta alat UV-Vis untuk menganalisa konsentrasi dari DOX.

2.1 Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah DOX. DOX atau *Doxorubicin* disimpan pada suhu $2-8^\circ\text{C}$ agar tidak merusak kandungan antibiotik antrasiklin yang ada didalamnya. Selanjutnya DOX 2000 ppm diencerkan menjadi 100 ppm. Larutan standar

diperlukan untuk mengetahui konsentrasi pada hasil uji uv-vis.

2.2 Adsorpsi DOX

Sebanyak (0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5) gram HA masing-masing dilarutkan dalam 10 mL DOX (100 ppm) diaduk menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer* pada kecepatan pengadukan 250 rpm, suhu kamar selama 24 jam. Setelah itu disaring menggunakan *vacuum dryer* dan diamkan selama 24 jam.

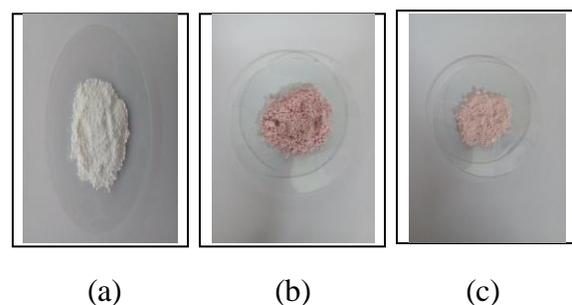
2.3 Pelepasan DOX dari HA

Sebanyak 270 mg serbuk DOX-HA direndam dalam 350 mL larutan PBS (pH 5,6 dan 7,4). Sampel diambil 10 mL tiap dua jam sekali selama 120 jam.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Adsorpsi dan Pelepasan DOX

DOX diadsorpsi kedalam HA untuk dijadikan *drug delivery*. DOX diadsorpsi melalui tahap pengadukan dan pemisahan menggunakan kertas saring. Pada proses ini menghasilkan padatan DOX-HA yang ditandai dengan serbuk berwarna merah muda. DOX yang sudah berhasil diadsorpsi kemudian dilepaskan kembali dalam media pelepasan berupa larutan buffer yaitu larutan *phosphat buffered saline* (PBS) untuk mengetahui kemampuannya sebagai *drug delivery*. Berikut adalah gambar yang membedakan antara HA Sebelum dan sesudah pelepasan DOX.



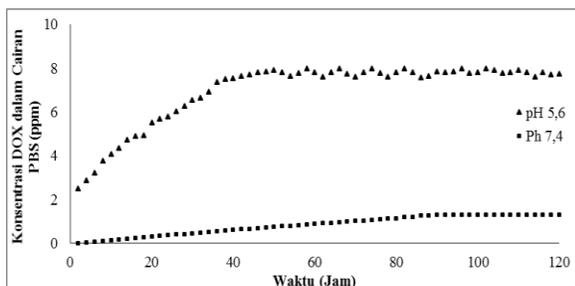
Gambar 3.1 (a) HA (b) HA-DOX (c) HA setelah DOX dilepas

Dari Gambar 3.1 terlihat adanya perbedaan warna. Pada (a) HA berwarna putih sedangkan (b) berwarna merah jambu yang berarti sudah teradsorpsi DOX. Pada (c) warna yang dihasilkan lebih muda daripada (b) yang artinya sebagian DOX yang sudah teradsorpsi pada HA berhasil dilepaskan kembali.

Untuk lebih memastikan adsorpsi dan pelepasan DOX, maka sampel serbuk dianalisa menggunakan FTIR, sedangkan sampel pada PBS dianalisa dengan spektrofotometer UV VIS.

3.2 Pengaruh Variasi pH terhadap Konsentrasi DOX

Berdasarkan pH fisiologis dalam aliran darah adalah 7,4 dan pH dalam endosom berada pada kisaran 5,5-6,4 maka penelitian pelepasan DOX ini dilakukan dalam PBS dengan pH 7,4 dan 5,6.



Gambar 3.2 Grafik Pelepasan DOX dari HA dalam PBS dengan variasi pH PBS

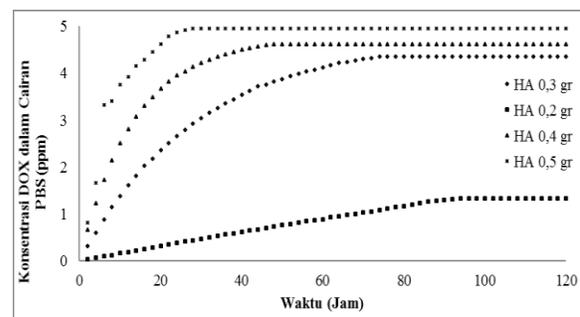
Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.2, pelepasan cepat terjadi dalam 40 jam pertama diikuti pelepasan lambat hingga 120 jam. Setelah pelepasan cepat diawal, konsentrasi DOX dilepaskan dalam PBS dipertahankan sekitar 1,25 dan 6,92 ppm pada masing-masing pH 7,4 dan 5,6. Konsentrasi yang dilepaskan DOX dari HA pada pH 5,6 lebih tinggi daripada pH 7,4.

Hal ini dapat dijelaskan dengan alasan berikut. Pertama, DOX dipermukaan HA bisa mendapatkan proton dan menukar gugus amino (-NH₂) menjadi amina tersier (-

NH₃⁺) dalam medium asam. Kemudian ikatan hidrogen antara DOX dan HA tidak dapat terbentuk (Yang, 2010). Kedua, protonasi DOX memiliki kelarutan yang tinggi (Qi, 2010) akibatnya tingkat pelepasan DOX meningkat dengan penurunan nilai pH dari larutan buffer. Tujuan sistem pengiriman obat yang terkontrol adalah untuk mencapai sebuah laju pelepasan konstan, terkendali, dan jangka panjang. Oleh karena itu, dalam penelitian ini untuk analisa selanjutnya dipilih salah satu pH yang sesuai dengan tujuan sistem pengiriman obat yang terkontrol yaitu pH 7,4.

3.3 Pengaruh Variasi Massa terhadap Konsentrasi DOX

Semakin banyak HA yang digunakan maka konsentrasi DOX yang dilepaskan semakin tinggi, karena semakin banyaknya daerah permukaan HA yang berkontak dengan PBS sehingga semakin banyak yang melepas DOX dari HA tersebut.



Gambar 3.3 Grafik Pelepasan DOX dari HA dalam PBS dengan variasi massa HA

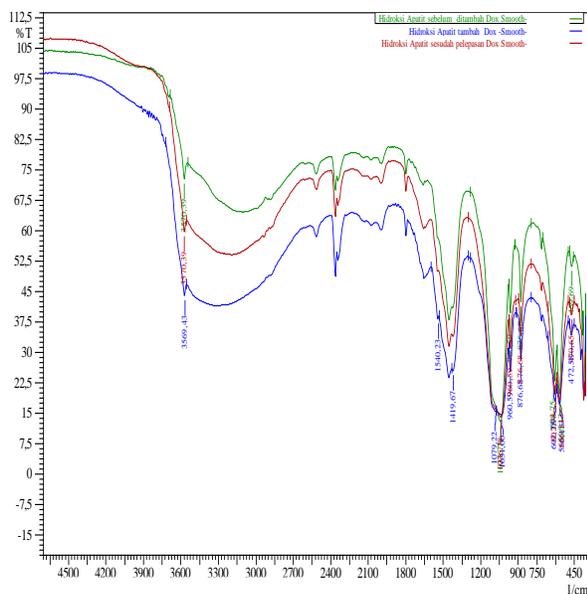
Variasi massa HA yang dilakukan pada penelitian ini adalah 0,2; 0,3 0,4; dan 0,5 gram. Hasil laboratorium yang menunjukkan pengaruh massa HA terhadap konsentrasi DOX dapat dilihat pada Gambar 3.3. Selain itu, konsentrasi DOX yang dilepas dalam larutan PBS memiliki nilai batas. Konsentrasi DOX tidak meningkat bahkan dalam waktu yang berkepanjangan.

Hal ini disebabkan karena semakin lama konsentrasi di cairan semakin mendekati konsentrasi jenuhnya (gradien konsentrasi semakin kecil) sehingga kecepatan transfer massa semakin kecil. Kecepatan transfer massa ditentukan oleh adanya perbedaan (*driving force*) dari keadaan kesetimbangan (Gu, 2014). Fakta ini menunjukkan bahwa HA yang bermuatan DOX memiliki tingkat pelepasan yang lambat, jangka panjang, dan stabil, yang dapat mencegah pelepasan DOX secara eksplosif dan memperpanjang efek obat. Oleh karena itu HA bisa dijadikan sebagai *drug delivery* karena konsentrasi obat jangka panjang yang berkelanjutan.

3.4 Analisa FTIR HA dan DOX

Analisa yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa yang terdapat pada sampel beserta komposisinya bisa menggunakan analisa FTIR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*).

Adapun gugus fungsional pembentuk dari HA terdiri dari gugus OH, CO dan PO₄, sedangkan gugus fungsional pembentuk dari DOX adalah N-H, C=C, C-H, dan C-C.



Gambar 3.6 Analisa FTIR HA

Gambar 3.6 merupakan hasil spektra FTIR HA. Pada garis berwarna hijau terdapat gugus fungsional HA saja, sedangkan pada garis berwarna biru sudah muncul gugus fungsi lain yang merupakan gugus fungsi DOX. Lalu pada garis berwarna merah yang ada hanya tinggal gugus fungsi HA saja yang menandakan bahwa DOX yang terikat sebelumnya sudah berhasil dilepaskan.

Spektrum FTIR dari HA standar mengandung tiga puncak utama pada kisaran 3600-3000, 1650-873, dan 1190-469 cm⁻¹. Adanya serapan pada bilangan gelombang 3570,39 cm⁻¹ menunjukkan adanya serapan gugus -OH. Pada pita serapan bilangan gelombang 1037,75 dan 876,68 menunjukkan vibrasi ulur gugus CO. Pita serapan yang terdapat pada bilangan gelombang 960,59; 603,75; 566,13; dan 469,69 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus fungsi PO₄. Selain gugus fungsi tersebut merupakan gugus fungsi dari DOX.

4. Kesimpulan

Perbedaan pH PBS dan rasio massa DOX-HA sangat mempengaruhi hasil penelitian ini. Konsentrasi yang dilepaskan pada pH 5,6 lebih tinggi daripada pH 7,4. Hal ini dibuktikan dengan pelepasan pada 40 jam pertama konsentrasi DOX dilepaskan dalam PBS dipertahankan pada 1,25 dan 6,92 ppm pada masing-masing pH 7,4 dan 5,6. Pelepasan dalam 40 jam pertama pada pH 7,4, konsentrasi DOX dilepaskan dalam PBS dipertahankan pada 0,625; 3,541; 4,508; dan 4,958 ppm pada masing-masing 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 gram HA. Semakin banyak HA yang digunakan maka konsentrasi DOX yang dilepaskan semakin tinggi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemenristekdikti atas pembiayaan penelitian ini pada tahun 2018.

Daftar Pustaka

- Bae, H. Y., dan Park, K. 2011. Targeted drug delivery to tumors : Myths, reality and possibility. *Journal of Controlled Release*. 153(3): 198-205.
- Crommelin, D. J. A., Hennink, W. E., dan Storm, G. 2001. Drug Targeting Systems : fundamentals and applications to parental drug delivery. *Drug Delivery and Targeting*. New York, NY. Taylor and Francis Inc : 199-125.
- Gu, L., He, X., dan Wu, Z. 2014. Mesoporous hydroxyapatite: Preparation, drug adsorption, and release properties. *Materials Chemistry and Physics*. 148(1): 153-158.
- Juliano, R. L., dan Akhtar, S. 1992. Liposomes as a drug delivery system for antisense oligonucleotides. *Antisense Research and Development*. 2(2): 165-176.
- Kemenkes, R., I. 2015. *Stop Kanker*. Jakarta : Infodatin-Kanker.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., dan Gianni, L. 2004. Anthracyclins Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacol Review Journal*. 56(2): 185-228.
- Riset kesehatan dasar 2013. Jakarta: *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI*.
- Suchanek, W., dan Yoshimura, M. 1998. Processing and Properties of Hydroxyapatite-based Biomaterials for Use as Hard Tissue Replacements Implants. *Journal of Materials Research*. 13(1): 94-117.
- Sunaryati, S.S. 2011. 14 Penyakit Paling Sering Menyerang dan Mematikan. Jogjakarta : Flash Books.
- Suryadi. 2011. Sintesis dan Karakteristik Biomaterial Hidroksiapatit dengan Proses Pengendapan Kimia Basah. Universitas Indonesia
- Suzuki, S., Fuzita, T., Maruyama, T., Takahashi, M., dan Hikichi, Y. 1993. Cation-Exchange Characteristics of Sintered Hydroxyapatite in the Strongly Acidic Region. *Journal of the American Ceramic Society*. 76(6): 1638-1640.