

Formulasi Larutan Nanopartikel Mineral Tanah Lempung Gunung Palasari serta Uji Aktivitas Anti Kanker Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt)

Firdaus Muis & G. C. Eka Darma & Aulia Fikri Hidayat

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: Firdaus.muis63@gmail.com, g.c.ekadarma@gmail.com, aulia.fikri.h@gmail.com

ABSTRACT: Cancer or neoplasm is the development of normal cells by regulating growth and proliferation mechanisms in normal cells. In general, conventional cancer drugs have adverse side effects on the body such as liver and kidney damage, bone marrow damage, lung damage, heart damage, and others. So that many people are turning from conventional cancer treatment to traditional medicine. The people of Gunung Palasari, Kec. Cilengkrang, Kab. Bandung. using soil as an alternative to cancer treatment. one of the compounds in soil minerals, namely bentonite, which is used as a drug delivery system for anti-cancer therapy such as Paclitaxel, 5Fu, 6-Mercaptopurine. The purpose of this study was to determine the effectiveness of soil minerals as anti-cancer against shrimp larvae, to obtain soil mineral nanoparticle formula concentrations that are physically stable and meet pharmaceutical requirements, and to determine the effectiveness of soil mineral nanoparticle solutions against shrimp larvae. BSLT testing of clay mineral solutions and bentonite functions as a test in an unformulated form, then proceed with the preparation of a nanoparticle solution formula with the ionic gelation method between Chitosan and NaTPP, using 4 different chitosan concentration formulas (1%; 0.5%; 0, 1%, and 0.01%). Physical evaluation using the PSA method and cytotoxic activity test of the best clay nanoparticles solution at a concentration of 1% with LC50 17.0960 ppm and particle size 772.4 nm.

Keywords: Anti-cancer, Nano particles, Bentonite, Ionic Gelation, Chitosan, PSA, BSLT.

ABSTRAK: Kanker atau neoplasma merupakan perkembangan dari sel normal melalui mekanisme pengaturan pertumbuhan dan proliferasi pada sel normal. Secara umum obat konvensional kanker memiliki efek samping yang tidak baik pada tubuh seperti, kerusakan hati, ginjal, kerusakan sumsum tulang, kerusakan paru-paru, jantung, dan lain-lain. Sehingga banyak masyarakat yang beralih dari pengobatan kanker secara konvensional ke pengobatan tradisional. Masyarakat gunung palasari kec.Cilengkrang Kab.Bandung. menggunakan tanah sebagai alternatif pada pengobatan kanker. salah satu senyawa pada mineral tanah yaitu bentonite yang digunakan sebagai sistem penghantaran obat untuk terapi anti kanker seperti Paclitaxel, 5Fu, 6-Mercaptopurine. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efektifitas mineral tanah sebagai anti kanker terhadap larva udang, didapatkannya konsentrasi formula nanopartikel mineral tanah yang stabil secara fisik dan memenuhi persyaratan farmasetika, dan mengetahui efektifitas sediaan larutan nanopartikel mineral tanah terhadap larva udang. Pengujian BSLT terhadap larutan mineral tanah lempung dan bentonite berfungsi sebagai pengujian dalam bentuk tidak terformulasi, lalu dilanjutkan dengan pembuatan formula larutan nanopartikel dengan metode glasi ionik antara Kitosan dan NaTPP, menggunakan 4 formula konsentrasi kitosan yang berbeda (1%; 0,5%; 0,1%; dan 0,05%). Evaluasi secara fisik menggunakan metode PSA dan uji aktivitas sitotoksik larutan nanopartikel tanah lempung terbaik di konsentrasi 1% dengan LC50 17,0960 ppm dan ukuran partikel 772,4 nm.

Kata Kunci: Anti kanker, Nano partikel, Gelasi Ionik, Bentonit, Kitosan, PSA, BSLT.

1 PENDAHULUAN

Data WHO menyebutkan di tahun 2018 terdapat 18,1 juta kasus baru dengan angka kematian sebesar 9,6 juta kematian, dimana 1 dari 5 laki-laki dan 1 dari 6 perempuan di dunia

mengalami kejadian kanker. Data tersebut juga menyatakan 1 dari 8 laki-laki dan 1 dari 11 perempuan, meninggal karena kanker, angka kejadian penyakit kanker di Indonesia (136.2/100.000 penduduk) berada pada urutan ke-

8 di Asia Tenggara, sedangkan di Asia urutan ke 23.

Ada sejumlah efek jangka Panjang atau kronis yang telah teridentifikasi dari obat kanker. Efek kesehatan ini meliputi: kerusakan hati dan ginjal, kerusakan sumsum tulang, kerusakan paru-paru dan jantung, infertilitas (reversibel atau permanen), efek pada reproduksi dan perkembangan janin pada wanita hamil, gangguan pendengaran (Ivanova and Avota, 2016). Berdasarkan hal-hal tersebut, masyarakat mulai beralih ke pengobatan alternatif yang berasal dari alam.

Salah satunya menggunakan tanah lempung, mineral lempung merupakan pelapukan akibat reaksi kimia yang menghasilkan susunan kelompok partikel berukuran koloid dengan diameter butiran lebih kecil dari 0,002 mm. Menurut (Holtz and Kovacs, 1981) satuan struktur dasar dari mineral lempung terdiri dari Silica Tetrahedron dan Alumina Oktahedron. Satuan-satuan dasar tersebut bersatu membentuk struktur lembaran. Tanah lempung terbagi menjadi dua, yaitu: tanah lempung alami dan tanah lempung sintetis, komposisi tanah utama berupa “SiO₂” dan “AlO₆”, salah satu senyawa mineral yang dapat digunakan sebagai senyawa obat yaitu *Montmorillonite* (bentonite) yang biasanya digunakan sebagai sistem penghantaran obat untuk terapi anti kanker seperti Paclitaxel, 5Fu, 6-Mercaptopurine (Moosavi, 2017). Agar penghantaran obat lebih baik dan selektif lagi maka dibuat sediaan nanopartikel.

Nanopartikel adalah partikel koloid padat dengan diameter mulai dari ukuran 1-1000 nm. Mereka terdiri dari bahan makromolekul dan dapat digunakan terapi sebagai pembantu dalam vaksin atau pembawa obat di mana bahan aktif dilarutkan, dijebak, dienkapsulasi, diabsorpsi atau dilekatkan secara kimia. Polimer yang digunakan untuk membentuk nanopartikel dapat berupa polimer sintetis dan alami (Tiyaboonchai, 2003).

Pada uji pendahuluan senyawa aktif mineral tanah. Salah satu hewan uji yang sesuai adalah *brine shrimp* (udang laut) *Artemia franciscana Kellogg.*, sejenis udang-udangan primitif yang berasal dari *Great Salt Lake*, Amerika Serikat dan termasuk famili *Artemiidae* tingkat rendah dari *Phylum arthropoda*, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Sarah, Anny and Misbahuddin, 2017).

Dari latar belakang diatas dapat dibuat

rumusan masalah bagaimana pengujian mineral tanah lempung terhadap larva udang, bagaimana formulasi sediaan nanopartikel yang mengandung mineral tanah lempung yang stabil secara fisik dan memenuhi persyaratan farmasetika, serta bagaimana pengujian efektifitas sediaan nanopartikel mineral tanah terhadap larva udang.

Berdasarkan rumusan masalah diatas tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas mineral tanah sebagai anti kanker terhadap larva udang, memperoleh formula nanopartikel mineral tanah yang stabil secara fisik dan memenuhi persyaratan farmasetika, dan untuk mengetahui efektifitas sediaan larutan nanopartikel mineral tanah terhadap larva udang.

Manfaat dari penelitian ini untuk memperoleh kadar efektif mineral tanah sebagai anti kanker terhadap sel larva udang, didaptkannya formula nanopartikel mineral tanah yang stabil secara fisik dan memenuhi persyaratan farmasetika, mengetahui efektifitas sediaan larutan nanopartikel mineral tanah terhadap larva udang.

2 LANDASAN TEORI

Kanker atau neoplasma merupakan perkembangan dari sel normal melalui mekanisme pengatur pertumbuhan dan proliferasi pada sel normal. Berdasarkan bukti pendukung, konsep karsinogenesis merupakan proses yang diregulasi secara genetik, proses awal disebut sebagai proses inisiasi yang memerlukan paparan zat karsinogenik. (Bruno, 2008).

Agen antiproliferatif bertindak memperbaiki integritas reproduktif sel. Artinya agen tersebut mampu mempengaruhi sel yang mati dan mungkin membawa fungsi lainnya namun reproduksi tidak dapat berhasil secara utuh. Sintesis DNA, RNA, dan sel lainnya dapat berlansung secara normal (Allison, 1970).

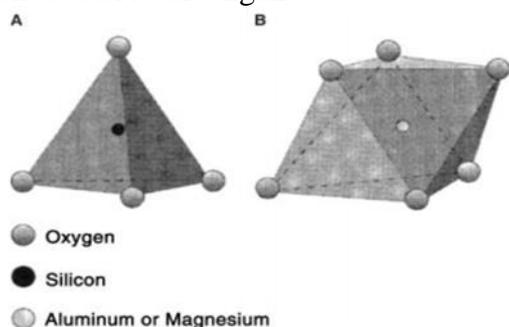
Radioterapi dan kemoterapi dapat merusak jaringan, sehingga jaringan yang sehat tidak dapat mentoleransi radiasi dan dosis obat harus dijaga pada level yang rendah (Vali et al., 2015). Efek samping yang sering terjadi meliputi gejala gastrointestinal berupa mual muntah, stomatitis, diare, konstipasi, mielosupresi berupa anemia, leukopenia, trombositopenia, alopecia, gangguan liver, dan ginjal (Warr, 2008). Pada penelitian ini digunakan metode pengujian BSLT.

BSLT merupakan alat uji yang penting sebagai

skrining awal sitotoksik dari ekstrak tanaman atau bahan lainnya, berdasarkan kemampuannya dalam membunuh kultur larva (naupulii). Larva udang dipapar dengan berbagai macam konsentrasi ekstrak tanaman selama 24 jam. Banyaknya larva udang yang mati kemudian di hitung untuk melihat keefektifan ekstrak (Sarah, Anny and Misbahuddin, 2017). Karena efek samping yang banyak terjadi, maka di kembangkan obat anti kanker yang berasal dari tanaman dan mineral tanah. Salah satu diantaranya melalui formulasi nanopartikel tanah lempung sebagai agen anti kanker.

Mineral tanah liat mengacu pada sekelompok aluminosilikat hidrat yang mendominasi fraksi tanah. Mineral-mineral ini memiliki komposisi kimia dan struktur yang mirip dengan mineral primer yang berasal dari kerak bumi. Namun, transformasi dalam susunan geometris atom dan ion dalam strukturnya terjadi karena pelapukan. (Barton and Karathanasis, 2002).

Sifat-sifat yang menentukan komposisi mineral berasal dari fondasi kimianya, susunan geometri atom dan ion, dan gaya listrik yang mengikatnya, SiC $>$ 4 tetrahedron adalah dasar dari semua struktur silikat. Struktur terdiri dari empat ion O $^{2-}$ di apeks tetrahedron reguler terkoordinasi dengan satu Si $^{4+}$ di tengah.



Gambar 1. Struktur Umum Tanah Lempung (Barton and Karathanasis, 2002)

Montmorillonites (bentonite) banyak digunakan sebagai system penghantaran obat untuk terapi obat kanker, serta menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan sel kanker U251 (sistem syaraf pusat, Glioblastoma), permukaan tanah liat (bentonite) dapat mengontrol level pertumbuhan metabolit (Moosavi, 2017).

Nanopartikel memiliki ukuran di rentan 1-1000nm. Nanopartikel dapat diubah melalui pengontrolan ukuran dari materialnya, mengatur komposisi kimia, modifikasi permukaan dan pengaturan interaksi antar partikel (Tiyaboonchai,

2003).

Metode gelasi ionik dilakukan dengan mencampurkan larutan polimer dan polyanion hingga membentuk nanopartikel. Nanopartikel kitosan terbentuk melalui innteraksi elektrostatik antara gugus amin pada kitosan yang bermuatan positif dan polyanion yang bermuata negative seperti tripoliposfat. (Laili, Winarti and Sari, 2014).

Polimer pembawa nanopartikel (nanocarrier) dalam penelitian ini adalah kitosan karena bersifat biokompatibel, biodegradabel, dan tidak toksik (Tiyaboonchai, 2003).

Natrium Tripolifosfat memiliki bobot molekul 119,976 g/mol dengan titik leleh 200oC (Haynes, W. M, 2015). Kelarutan didalam air 85 g/100 ml, tidak larut dalam etanol atau eter dengan densitas 2360 kg/cm (Bp et al., 2005). Konstanta disosiasinya 6,8 – 7,2 (F. Salaun, B.Mietton, 2007)

Particle Size Analyzer (PSA) adalah alat yang mampu mengukur partikel distribusi emulsi, suspensi dan bubuk kering, Scanning Elctron Microscopy (SEM), Transmission Electron Microscopy (TEM), dan mikroskop daya atom adalah bentuk dan keadaan dimana permukaan nanopartikel dapat memberi informasi tentang sifat pelepasan obat. Adapun cara kerja dari SEM yaitu gambar dibuat berdasarkan deteksi elektron baru atau pantulan electron yang muncul dari permukaan sampel ketika permukaan sampel tersebut dikenai sinar elektron. Elektron pantul yang terdeteksi selanjutnya diperkuat sinyalnya, kemudian besar amplitudonya ditampilkan dalam gradasi gelap-terang pada layar monitor CRT (Cathode Ray Tube). Di layar CRT inilah gambar struktur objek yang sudah diperbesar bisa dilihat. Pada proses operasinya, SEM tidak memerlukan sampel yang ditipiskan, sehingga bisa digunakan untuk melihat objek dari sudut pandang 3 dimensi (Abdassah, 2009).

3 METODE PENELITIAN

Dalam penelitian formulasi dan evaluasi nanopartikel tanah lempung diawali dengan melakukan penyiapan bahan dan pembuatan larutan konsentrasi. Analisis yang dilakukan untuk formula nanopartikel meliputi ukuran partikel menggunakan Particle Size Analyzer (PSA), Spektrofotometri UV-Visible dan BSLT. Optimasi formula menggunakan empat formula dengan

konsentrasi larutan (0.05%, 0,1%, 0.5%, 1%). Pembuatan nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik dengan kitosan sebagai polimernya. Untuk larutan nanopartikel dan non nano tanah lempung dilakukan uji sitotoksik menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT)

4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Secara empiris tanah lempung digunakan sebagai antikanker oleh masyarakat karena tidak ada efek samping yang ditimbulkan akibat penggunaan tanah lempung, seperti halnya pada obat anti kanker konvensional yang memiliki efek samping yang beragam meliputi gejala gastrointestinal berupa mual, muntah, stomatitis, diare, konstipasi, mielosupresi berupa anemia, leukopenia, trombositopenia, alopecia, gangguan liver, dan ginjal (Vali et al., 2015).

Penggunaan tanah lempung Gunung Palasari yaitu karena tujuan dari penelitian ini untuk membuktikan secara ilmiah sistem pengobatan anti kanker menggunakan tanah yang terdapat di daerah tersebut, dalam tanah lempung terdapat bentonite yang berfungsi sebagai anti kanker (Moosavi, (2017). Kandungan bentonite didalam tanah lempung berbeda beda tergantung dari asal tanah tersebut, yang dapat mempengaruhi kandungannya yaitu, iklim, bahan induk, organisme, topografi, waktu (Kasifah, 2018). Pengujian paling sederhana dari anti kanker salah satunya menggunakan metode BSLT yang merupakan skrining awal sitotoksik dengan penghitungan angka LC₅₀ dari larva udang *Artemia salina*, nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak uji yang menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Ekstrak dinyatakan aktif apabila nilai LC₅₀ lebih kecil dari 1000 µg/mL (Sarah, Anny and Misbahuddin, 2017).

Penyiapan Bahan dan Karakterisasi

Menurut (Huang and Keller, (1971), pelarut yang paling optimum yang digunakan yaitu as.tartrat dan as. salisilat yang dapat menarik bentonite dari tanah lempung, dari dua pelarut yang digunakan diperoleh pelarut yang optimal yaitu asam sitrat dengan konsentrasi 1,883 ppm. Penelitian kali ini menggunakan metode glasi ionik. Nanopartikel kitosan dapat di preparasi melalui interaksi muatan makromolekul yang berbeda. NaTPP

biasanya digunakan untuk mempreparasi nanopartikel kitosan, karena NaTPP bersifat tidak toksik, multivalent dan dapat membentuk gel melalui interaksi ionic, interaksi tersebut dapat di kontrol melalui muatan densitasi NaTPP dan kitosan, tergantung pada pH larutan tersebut (Zhao et al., 2011). Formula nanopartikel mineral tanah yang digunakan sebagai konsentrasi adalah (1%; 0,5%; 0,1%; 0,05%)

Tabel 1. formulasi kitosan dan NaTPP

| Bahan | Formulasi | | | |
|---------|-----------|-------|-------|-------|
| | F1 | F2 | F3 | F4 |
| Kitosan | 0,05% | 0,10% | 0,50% | 1% |
| NaTPP | 0,10% | 0,10% | 0,10% | 0,10% |

Formulasi Nanopartikel Tanah Lempung

Pembuatan larutan nanopartikel dilakukan dengan mencampurkan larutan tanah lempung yang telah dilarutkan terlebih dahulu dengan asam sitrat lalu dicampurkan dengan kitosan yang telah diatur konsentrasinya, lalu dicampurkan NaTPP 0.1% tetes demi tetes sampai tercampur ke dalam larutan kitosan dan larutan tanah, sambil diaduk selama 1 jam lalu disonikasi selama 30 menit. Tujuan dilakukan sonikasi yaitu untuk memperkecil ukuran partikel pada larutan dan fungsi Kitosan serta NaTPP 0,1% sebagai agen *crosslink* yakni untuk menjaga agar larutan partikel tanah tetap stabil dan tidak berukuran besar dengan cara mengikat larutan nano partikel diantara kitosan dan NaTPP. (Bhumkar and Pokharkar, (2006)

Karakteristik dan pengujian sitotoksik dengan metode BSLT

Pengujian menggunakan Spektrofotometri UV/Vis dengan tujuan untuk mengetahui λ_{max} dari larutan uji. Fungsi λ_{max} pada spektrum untuk membandingkan senyawa murni dengan senyawa yang telah di berikan perlakuan khusus. Menurut (E Maina) λ_{max} pada bentonite 270-300 nm, sedangkan pada penelitian ini diperoleh λ_{max} sebagai berikut:

Tabel 2. Panjang gelombang maksimum setiap sampel uji

| Sampel Uji | λ_{max} |
|------------------------|-----------------|
| Bentonite | 308 |
| Tanah | 307 |
| Nano Partikel Bentonit | 340 |
| Nano Partikel Tanah | 336 |

Pada bentonite yang di gunakan memiliki Panjang gelombang 308 nm sedangkan menurut (E Maina) panjang gelombang maksimum bentonite di 270-300 nm, perbedaan ini bisa disebabkan oleh alat yang digunakan yaitu sepektro uv-vis single beam karena pada single beam nilai yang diperoleh hanya nilai absorbansi dari larutan yang dimasukan, sedangkan pada doble beam nilai balanko dapat langsung diukur Bersama dengan larutan yang diinginkan dalam satu kali proses yang sama, atau pada blanko kuvet yang digunakan kurang bersih karena pengulangan penggunaan balance pada alat single beam. Begitupun pada tanah lempung dengan hasil tidak jauh dengan bentonite di panjang gelombang 307 nm, untuk pada nano partikel bentonite dan tanah Panjang gelombangnya ada di 340 dan 336 nm, hal ini dikarenakan pengujian Panjang gelombang menggunakan spektrofotometri uv-vis tidak dalam kondisi senyawa tunggal, kemungkinan terdapat senyawa lain di dalam larutan, sehingga besar kemungkinan senyawa lain tersebut ikut terbaca oleh spektrofotometri uv-vis. Pengujian menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) dilakukan di lab farmasi Institut Teknologi Bandung, adapun fungsi PSA untuk mengetahui ukuran partikel sampel dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil PSA larutan nanopartikel tanah lempung pada setiap konsentrasi

| Konsentrasi | Rentang |
|-------------|----------|
| F1 | 772,4 nm |
| F2 | 620,2 nm |
| F3 | 425,0 nm |
| F4 | 524,8 nm |

Dari hasil tersebut diperoleh ukuran yang masuk dalam rentang nanopartikel di kisaran 1-1000 nm (Tiyaboonchai, 2003). Dari hasil PSA pada table IV.3 hasil terbaik ada pada formula 3

diperoleh ukuran partikel 425,0 nm hal ini dapat disebabkan karena laboratorium yang digunakan bukan kampus UNISBA (Universitas Ialam Bandung) sehingga mengakibatkan sampel yang digunakan untuk pengujian PSA tidak dalam keadaan baru atau dengan kata lain tidak pada kondisi optimumnya, yang mana jarak waktu antara pengerjaan larutan nano partikel dan pengujian lebih dari 24 jam, dan dapat mengakibatkan enkapsulasi pada nano partikel tidak bertahan lama.

Tabel 4. hasil LC_{50} antara nano partikel tanah lempung dan nano partikel bentonit

| konsentrasi | LC_{50} | |
|-------------|----------------------------|-----------------------|
| | Nanopartikel tanah lempung | Nanopartikel bentonit |
| 1% | 17,0960 ppm | 15,4457 ppm |
| 0,50% | 26,9020 ppm | 62,2580 ppm |
| 0,10% | 32,7710 ppm | 62,3017 ppm |
| 0,05% | 33,3810 ppm | 71,7794 ppm |

Dilihat dari table IV.4 hasil LC_{50} antara nanopartikel tanah lempung dan nanopartikel bentonite yang bagus lebih di dominansi oleh nanopartikel tanah lempung dengan hasil yang lebih bagus, tetapi pada konsentrasi 1% hasil LC_{50} nanopartikel bentonite lebih baik dibanding nanopartikel tanah lempung, hal ini dapat disebabkan karena adanya perbedaan waktu sonikasi antara nanopartikel tanah lempung (15 menit) dan nano partikel bentonit (10 menit). Lalu untuk larutan stok 1% pada saat larutan stok digunakan untuk pengujian tidak di kocok kembali, sehingga pada konsentrasi 1% yang terambil dalam kondisi pekat. Sedangkan untuk rata-rata nanopartikel tanah lempung lebih baik dibandingkan dengan rata-rata nanopartikel bentonite karena didalam kandungan tanah lempung tidak hanya terdapat senyawa bentonite, tetapi terdapat senyawa lain yang kemungkinan berpotensi juga sebagai anti kanker, atau sebagai pembantu dari bentonite sehingga kerja bentonite lebih maksimal.

Berdasarkan penelitian berikut didapatkan hasil lc_{50} terbaik di konsentrasi 1% (17,096 ppm) dengan ukuran partikel 772,4 nm, Ketika semakin kecil ukuran partikel maka semakin bagus penggunaannya sebagai anti kanker, sedangkan pada penelitian kali ini ukuran terbaik dari larutan nano partikel yang terbaik ada di formula 1 dengan konsentrasi .

5 KESIMPULAN

Dari penelitian ini diketahui bahwa larutan tanah lempung dan larutan nanopartikel tanah lempung terbukti memiliki potensi sitotoksik yang ditunjukkan dengan nilai LC50 < 1000 ppm yaitu tanah lempung (817.523 ppm), nanopartikel tanah lempung (1%;17.096 ppm, 0.5%;26.902 ppm, 0.1%;32.771 ppm, 0.05%;33.381 ppm). Larutan yang memiliki potensi aktivitas sitotoksik lebih kuat yaitu nanopartikel tanah lempung konsentrasi 1%, pada tingkat sitotoksik lemah, yaitu 17.096 ppm.

SARAN

Dari hasil penelitian diketahui bahwa larutan tanah lempung dan larutan nanopartikel tanah lempung berpotensi sebagai obat sitotoksik, maka penelitian ini dapat diteliti lebih lanjut dengan menggunakan pelarut yang lebih baik lagi seperti asam aspartat dalam melarutkan senyawa sitotoksik pada tanah atau pelarut lain, serta mengetahui komponen-komponen kandungan tanah yang dapat berpotensi sebagai obat sitotoksik, dan dapat dilanjutkan dengan metode pengujian yang lebih spesifik lagi terhadap kanker yaitu metode kultur sel kanker seperti MTT-assay, anti proliferasi, dan apoptosis sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. (2009) 'Farmaka NANOPARTIKEL DENGAN GELASI IONIK Farmaka', *Farmaka*, 15(1), pp. 45–52.
- Allison, A. C. (1970) 'The Complications of Immunosuppression', *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 63(10), pp. 1077–1080. doi: 10.1177/003591577006301055.
- Barton, C. D. and Karathanasis, A. D. (2002) 'Clay Minerals in Rattan Lal', *Encyclopedia of Soil Science*, pp. 187–192. doi: 10.1081/E-ESS-120001688.
- Bhumkar, R. D. and Pokharkar, V. B. (2006) 'Studies on effect of pH on cross-linking of Chitosan with sodium tripolyphosphate: A technical note', *AAPS PharmSciTech*, 7(2), pp. 2–7. doi: 10.1208/pt070250.
- Bp, D. et al. (2005) 'Safety data sheet Safety data sheet', *Carbon*, 1173(i), pp. 1–8.
- Bruno, L. (2008) *Pharmacotherapy a Pathophysiologic approach*, *Journal of Chemical Information and Modeling*. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- F. Salaun, B.Mietton, and F. G. (2007) 'influence of mineral environment on the buffering capacity of casein micelles'.
- Holtz, R. D. (University of W. and Kovacs, W. D. (University of R. I. (1981) 'AA Holtz & Kovacs - An Introduction to Geotechnical Engineering.pdf (1)', *An Introduction to Geotechnical Engineering*, pp. 1–719.
- Huang, W. H. and Keller, W. D. (1971) 'Dissolution of Clay Minerals in Dilute Organic Acids At Room Temperature', *The American Mineralogist*, 56, pp. 1082–1095.
- Ivanova, K. and Avota, M. (2016) 'Antineoplastic Drugs: Occupational Exposure and Side Effects', *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences*, 70(5), pp. 325–329. doi: 10.1515/prolas-2016-0049.
- Kasifah, K. (2018) 'Dasar-Dasar Ilmu Tanah Disusun Oleh ', (September).
- Laili, H. ., Winarti, L. and Sari, L. O. R. . (2014) 'Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Na ringenin dengan Variasi Rasio Massa Kitosan-Natrium Tripolifosfat', *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 2 (2)(2), pp. 308–313. Available at: file:///C:/Users/pc/AppData/Local/Temp/1897-1-3724-1-10-20151206.pdf.
- Moosavi, M. (2017) 'Bentonite clay as a natural remedy: A brief review', *Iranian Journal of Public Health*, 46(9), pp. 1176–1183.
- Sarah, Q. S., Anny, F. C. and Misbahuddin, M. (2017) 'Brine shrimp lethality assay', *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(2), pp. 186–189. doi: 10.3329/bjp.v12i2.32796.
- Tiyaboonchai, W. (2003) 'Chitosan Nanoparticles : A Promising System for Drug Delivery', *Naresuan University Journal*, 11(3), pp. 51–66.
- Vali, G. et al. (2015) 'Technical Note: A proposal for ice nucleation terminology', *Atmospheric Chemistry and Physics*, 15(18), pp. 10263–10270. doi: 10.5194/acp-15-10263-2015.
- Warr, D. (2008) 'Chemotherapy and cancer related nausea and vomiting', *Current Oncology*, 15(S1), pp. 4–9. doi: 10.3747/co.2008.171.

Zhao, L. M. et al. (2011) 'Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers', *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(3), pp. 353–362. doi: 10.1590/S0104-66322011000300001.