

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR  
PENELITIAN BERBASIS KOMPETENSI  
(PBK)**



**DESAIN DAN APLIKASI MULTIFUNGSI NANOPARTIKEL  
MAGNETOFLUORESENSI TERLINGKUPI *ALBUMIN* PADA  
PENANGGULANGAN KANKER**

**TAHUN KE - 2 DARI RENCANA 2 TAHUN**

**Mochamad Zakki Fahmi, S.Si, M.Si, Ph.D (NIDN 0002078307)**

**Yatim lailun Ni'mah, M. Si, Ph.D (NIDN 0024058402)**

**Dr. Bambang Purwanto, S.Ked, M.Kes (NIDN 0028088001)**

**DIBIYAI OLEH:**

**DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT  
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN  
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN  
KEPADA MASYARAKAT**

**NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA  
NOVEMBER 2018**

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR  
PENELITIAN BERBASIS KOMPETENSI  
(PBK)**

KKC  
KC  
LP 81/19  
Fah  
d



**DESAIN DAN APLIKASI MULTIFUNGSI NANOPARTIKEL  
MAGNETOFLUORESENSI TERLINGKUPI ALBUMIN PADA  
PENANGGULANGAN KANKER**

**TAHUN KE - 2 DARI RENCANA 2 TAHUN**

**Mochamad Zakki Fahmi, S.Si, M.Si, Ph.D (NIDN 0002078307)**

**Yatim Iailun Ni'mah, M. Si, Ph.D (NIDN 0024058402)**

**Dr. Bambang Purwanto, S.Ked, M.Kes (NIDN 0028088001)**

**DIBIYAI OLEH:**

**DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT  
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN  
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN  
KEPADA MASYARAKAT  
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA  
NOVEMBER 2018**

**HALAMAN PENGESAHAN**

Judul : DESAIN DAN APLIKASI MULTIFUNGSI  
NANOPARTIKEL MAGNETOFLUORESENSI  
TERLINGKUPI ALBUMIN PADA  
PENANGGULANGAN KANKER

**Peneliti/Pelaksana**  
Nama Lengkap : MOCHAMAD ZAKKI FAHMI, S.Si, M.Si, Ph.D  
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga  
NIDN : 0002078307  
Jabatan Fungsional : Lektor  
Program Studi : Kimia  
Nomor HP : 083832901697  
Alamat surel (e-mail) : m.zakki.fahmi@fst.unair.ac.id

**Anggota (1)**  
Nama Lengkap : YATIM LAILUN NI MAH S.Si, M.Si, Ph.D  
NIDN : 0024058402  
Perguruan Tinggi : Institut Teknologi Sepuluh Nopember

**Anggota (2)**  
Nama Lengkap : Dr. dr. BAMBANG PURWANTO S.Ked, M.Kes  
NIDN : 0028088001  
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

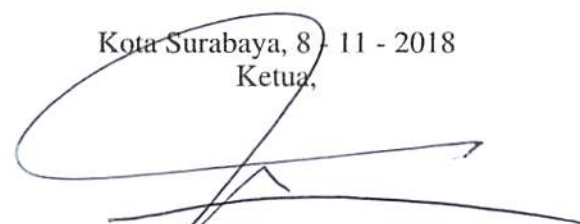
**Institusi Mitra (jika ada)**  
Nama Institusi Mitra : -  
Alamat : -  
Penanggung Jawab : -  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp 250,000,000  
Biaya Keseluruhan : Rp 360,000,000

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi



(Prof. Win Darmanto, M.Si, Ph.D)  
NIP/NIK 196106161987011001

Kota Surabaya, 8 - 11 - 2018  
Ketua,



(MOCHAMAD ZAKKI FAHMI, S.Si, M.Si,  
Ph.D)  
NIP/NIK 198307022009121005

Menyetujui,  
Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi



(Prof. Hery Purnobastuti, M.Si, Ph.D)  
NIP/NIK 196705071991021001

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

*[Faint, mostly illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the page. Some words like "LAPORAN" and "REVISI" are faintly visible.]*

LAPORAN PENELITIAN  
 DESAIN DAN APLIKASI ...  
 MOCHAMAD ZAKKI FAHMI

## RINGKASAN

Penelitian yang ini difokuskan pada sintesis dan karakterisasi dari dua jenis nanopartikel, yakni magnetik nanopartikel ( $MnFe_2O_4$  dan  $CuFe_2O_4$ ) dan karbon dots, yang kemudian menggabungkan keduanya dalam bentuk nanopartikel hibrida dimana selain memiliki kemampuan pendeteksian ganda, juga memiliki kemampuan multi fungsi sebagai pengantar obat yang secara spesifik diharapkan mengarah ke sel kanker. Selama dua tahun waktu yang berjalan, penelitian ini telah berhasil mensintesis nanopartikel dengan menggunakan method *solvothermal* (untuk sintesis nanopartikel magnetic dan method pirolisis (untuk mensintesis karbon dots), hasil karakterisasi dari XRD, AFM, TEM uji, dan uji kestabilan membuktikan bahwa nanopartikel-nanopartikel yang diharapkan telah terbentuk, dan memiliki kestabilan yang baik untuk diaplikasikan ke kanker secara *in vitro*. Proses penggabungan nanopartikel dengan bantuan serum albumin ( untuk membentuk nanopartikel hybrid), modifikasi dan loading obat anti kanker juga merupakan proses yang telah dilakukan dan merupakan tahapan penting agar dicapai hasil yang baik dan sesuai dengan tujuan penelitian. Lebih lanjut, hasil penelitian pada tahapan *invitro* dan *invivo* menunjukkan bahwa nanopartikel hibrida memiliki keunggulan dari segi non-toksik dan dapat berperan secara efektif untuk deteksi dan penanggulangan kanker.



## PRAKATA

Kami panjatkan puji syukur Alhamdulillah kehadirat Allah subhanallahu wa taala karena hanya dengan perkenan-Nya Laporan Tahun Terakhir Hibah Berbasis Kompetensi kami dengan judul : **DESAIN DAN APLIKASI MULTIFUNGSI NANOPARTIKEL MAGNETOFLUORESENSI TERLINGKUPI ALBUMIN PADA PENANGGULANGAN KANKER** ini dapat disusun sebagai salah satu syarat penerintah hibah kompetitif nasional tersebut.

Pada proposal penelitian ini, kami mengembangkan desain NPs magnetofluoresensi sebelumnya dengan menggabungkan nanopartikel karbon dots (CQDs) dan nanopartikel magnetik (NPM). Tidak hanya BSA, penelitian ini nantinya juga menggunakan HSA sebagai agen *binder* pada NPs magnetofluoresensi. Molekul berbasis asam boronat yang pada penelitian ini berupa *4-carboxybenzeneboronic acid* (CBBA), kemudian diikatkan secara kimiawi pada NPs magnetofluoresensi untuk membuatnya tertarget secara spesifik pada sel kanker.

Semoga laporan kemajuan ini dapat bermanfaat dan dapat memenuhi persyaratan yang ditetapkan serta menjadi landasan untuk keberlangsungan dan kelanjutan penelitian ini.  
Terima kasih

Surabaya, 14 Nopember 2018

Ketua Peneliti

Mochamad Zakki Fahmi

NIP. 198307022009121005



## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	viii
PENDAHULUAN	1
3.1 Latar Belakang	1
3.2 Perumusan Masalah	4
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Definisi Nanopartikel	5
2.2. Nanopartikel magnetik	6
2.3. Nanopartikel carbon dots/graphene dots	7
2.4. Nanopartikel sebagai Sistem Penghantaran Tertarget	9
2.5. Albumin	10
TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	13
3.1 Tujuan	13
3.2 Penerapan Hasil Kegiatan	13
METHOD PENELITIAN	15
4.1. Pendekatan Teoritik	15
4.1.1. Sintesis Karbon dots NPs(CQDs)	15
4.1.2. Sintesis MnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> NPs	15
4.1.3. Pembentukan NPs magnetofluoresensi (NPs hibrid)	15



4.1.4. Mengikatkan <i>4-carboxybenzeneboronic acid</i> (CBBA) pada NPs magnetofluoresensi dan pemuatan Doxorubicin pada NPs Hibrida	16
4.1.5. Karakterisasi NPs magnetofluoresensi	16
4.1.6. Evaluasi kestabilan dan toksisitas.	16
4.1.7. Penyelidikan potensi NPs Magnetofluoresensi pada sel kanker	17
HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	18
5.1. Hasil	18
5.1.1. Sintesis Nanopartikel Magnetik	18
5.1.2 Sintesis karbon dots	19
5.1.3..Proses Pembentukan Magnetofluoresensi (NPs Hibrid)	21
5.1.4 Studi <i>in vitro</i> terhadap Desain Magnetofluorosensi	22
5.1.5 Analisa toksisitas secara <i>in vitro</i> dengan flowcytometry.	23
5.1.6 Analisa konfokal	24
5.1.7 Analisa kemagnetan	25
5.1.8 Pengujian pola release nanopartikel	27
5.1.9 Uji toxixitas secara <i>invivo</i> terhadap ikan zebra fish	31
5.2. Luaran yang dicapai	31
KESIMPULAN DAN SARAN	33
7.1. Kesimpulan	33
7.2. Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	36
Lampiran 1. Intrumen	36
Lampiran 2. Personalia tenaga pelaksana beserta kualifikasinya.	37

Lampiran 4. Publikasi Paper 2 (draft).....	39
Lampiran 5. Buku Ajar dengan Judul Nanoteknologi dalam Prespektif Kesehatan (Proses Cetak ke Airlangga University Press (AUP)).....	40
Lampiran 6. Publikasi dalam bentuk presentasi oral pada The 12 <sup>th</sup> Korea-ASEAN Joint Symposium .....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Jenis-jenis nanopartikel karbon dots. <sup>36</sup>	9
Gambar 2. Produk sintesis nanopartikel magnetik $MnFe_2O_4$ (a) dan $CuFe_2O_4$	18
Gambar 3. Difraktogram nanopartikel magnetik magnetik $MnFe_2O_4$ (a) dan	19
Gambar 4. Hasil Penyinaran dengan lampu UV 365 nm dengan urutan dari kiri: air dan nanopartikel karbon dots pada temperatur pemanasan 250°C.	20
Gambar 5. Hasil analisis nanopartikel karbon dots dengan AFM dalam bentuk 3 dimensi.	21
Gambar 6 Campuran $MnFe_2O_4$ (kanan) dan $CuFe_2O_4$ (kiri). Fasa atas terdiri dari nanopartikel magnetic dan fasa bawah merupakan carbon dots dalam air.	22
Gambar 7. Data MTT dari NPs Magnetofluoresensi (coklat); NPs Magnetofluoresensi terkonjugasi-CBBA (hijau); dan Magnetofluoresensi terkonjugasi-CBBA setelah dimuati Dox. Analisa dilakukan triplo pada masing-masing variasi.	23
Gambar 8. Data flow sitometri dari sel HeLa sebelum (a) dan setelah diinkubasi selama 1 jam dengan NPs Magnetofluoresensi (MNPs-CD, b); CBBA terkonjugasi NPs Magnetofluoresensi (CBBA-MNPs-CD, c); and Dox-CBBA terkonjugasi NPs Magnetofluoresensi (Dox/CBBA-MNPs-CD).	24
Gambar 9. Gambar konfokal dari sel hela setelah di inkubasi dengan MNPs-CD (a); CBBA-MNPs-CD (b); dan Dox/CBBA-MNPs-CD (c) selama 1 hr.	25
Gambar 10. Kurva histerisis momen magnet senyawa MNPs (hijau), MNPs-CD (biru), dan CBBA-MNPs-CD (Merah).	26

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 3.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara besar dengan lebih dari 17.000 pulau, dan luas daratan hampir mencapai  $2 \times 10^6$  km<sup>2</sup>. Secara administratif, Indonesia dibagi dalam 27, 241 kabupaten, 55 kota, 3501 kecamatan dan 66 desa 979, serta memiliki penduduk lebih dari 250 juta jiwa (tahun 2014). Bahkan populasi Indonesia juga memiliki populasi terbesar dunia setelah Cina, India, Rusia, dan Amerika.<sup>1</sup> Dengan begitu besarnya populasi Indonesia, potensi persebaran dan variasi penyakit sangat rentan terjadi di Indonesia. Tercatat beberapa jenis penyakit mewadiah di Indonesia, diantaranya penyakit kanker. Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit mematikan yang menjadi fokus perhatian dunia. Pada tahun 2012, *World Health Organization* (WHO) menyatakan terdapat sekitar 14 juta kasus penyakit kanker dan diperkirakan akan meningkat sampai 22 juta kasus pada dua dekade mendatang.<sup>2</sup> di Indonesia, meskipun tergolong penyakit tidak menular, kanker tergolong dalam penyakit ganas yang menduduki peringkat 10 besar penyakit mematikan.<sup>3</sup> Pemerintah Indonesia telah melakukan berbagai upaya guna menekan pertumbuhan dan penanggulangan penderita penyakit kanker. Riset tentang diagnosa dan penanggulangan kanker juga intensif dilakukan.

Terlepas dari masalah tersebut diatas, pada beberapa dekade terakhir, nanopartikel (NPs) telah diteliti secara intensif karena sifat unik yang dimiliki dan manfaat besar yang diberikan pada aplikasi *bioimaging*, *drug targeting*, *biosensing*, dan *biolabeling*.<sup>4-6</sup> Secara khusus, nanopartikel magnetik (NPM) banyak diminati karena merupakan material yang memiliki sensitivitas tinggi dalam aplikasinya sebagai agen pengontras *non-invasive* pada diagnosa biomedis. Studi-studi khusus kemudian banyak dirancang untuk memodifikasi MPM dengan tujuan mendapatkan desain NPs yang memiliki kemampuan multifungsi.<sup>7-9</sup> Pada kebanyakan kasus, penelaahan informasi secara detail pada level subseluler akan sangat sulit dilakukan dari data resonansi magnetik (MR). keterbatasan resolusi dan sensitivitas pada gambar MR

meningkatkan potensial kesalahan dalam spesifikasi sel dan, tentu saja, memungkinkan penanganan lanjutan menjadi tidak sesuai dan kurang optimal. Di lain pihak, material NPs yang memiliki sifat fotoluminisensi mulai banyak dikembangkan sejak dua dekade terakhir dengan salah satu keunggulannya, yakni mampu memberikan informasi gambar detail pada level subseluler. Salah satu jenis material dengan kemampuan fotoluminisensi adalah kuantum dots (QDs). dengan struktur ukuran nano-nya, QDs akan memiliki band gap khusus dan beberapa sifat yang menarik lainnya, diantaranya pita emisi yang sempit, panjang gelombang emisi yang tidak mudah berubah, dan foto stabilitas yang tinggi.<sup>10-12</sup> Sayangnya, aspek toksisitas kemudian menjadi kendala utama aplikasi QDs setelah melihat bahwa kebanyakan QDs yang ada mengandung logam berat yang berbahaya pada makhluk hidup. Beberapa upaya telah dilakukan untuk mengatasi masalah toksisitas ini, mulai dari memodifikasi QDs toksik dengan penambahan coating, mengganti unsur berbahaya yang terkandung dalam QDs, sampai mengembangkan nanopartikel QDs baru yang tidak bersifat toksik (misalnya NPs berbasis karbon, karbon dots).<sup>13-15</sup> Disamping non-toksik, NPs karbon dots yang pada sebagian studi menyebutnya sebagai kuantum dots grafin (Graphene Kuantum Dots), memiliki beberapa keunggulan terkait sifat optis, kelarutan dalam air, dan biokompabilitas.<sup>16-18</sup> Mudahnya memperoleh prekursor dan dan sederhananya proses sintesis, menjadikan NPs ini memiliki prospek untuk terus dikembangkan pada masa mendatang. NPs hibrid, yang merupakan gabungan beberapa NPs, mulai banyak dikembangkan pada katalis,<sup>19,20</sup> elektronik optik,<sup>21,22</sup> dan konversi energi.<sup>23</sup> Pada aplikasi biologis, NPs magnetofluoresensi, yaitu hibrid antara QDs dan NPM, paling menarik banyak perhatian karena dapat memberikan data diagnosa biomedis yang realibel dan akurat. Karenanya, banyak peneliti mendalami riset tentang NPs magnetofluoresensi dengan menggunakan beberapa jenis makromolekul dan polimer sebagai *binder*.<sup>7, 24-26</sup> Meskipun demikian, masalah toksisitas, kestabilan, dan kemampuan terbiodegradasi masih merupakan kendala dalam sintesis NPs magnetofluoresensi ini.

Jika dibandingkan dengan molekul-molekul lainnya, protein lebih memiliki keunggulan dari aspek multifungsi, biokompatible, stabilitas, dan kemudahan

terbiodegradasi. Sifat serbaguna dari protein yang mampu meminimalkan kompleksitas dan waktu difusi pada target biologis mendorong banyak penggunaannya pada bidang biomedis. Diantara banyak protein yang digunakan, *bovine serum albumin* (BSA) dan *human serum albumin* (HSA) merupakan pilihan yang sangat tepat sebagai nanocarier yang multifungsi. Kedua polipeptida ini merupakan surfaktan zwitterion yang bersifat komersial dan memiliki banyak gugus fungsi sehingga mudah direaksikan dengan protein lain,<sup>27</sup> polimer,<sup>28</sup> dan NPs.<sup>29</sup> Meskipun beberapa studi riset telah memanfaatkan albumin sebagai agen penstabil NPs dan aplikasi nanocarier untuk aplikasi medis,<sup>30-33</sup> aplikasi secara khusus dari kedua albumin pada sintesis NPs magnetofluoresensi belum banyak diteliti.

Sangat disadari bagi kami bahwa nanoteknologi memberikan peluang dan prospek yang bagus untuk diaplikasikan pada pengobatan kanker. Pada penelitian sebelumnya kami telah mengembangkan desain NPs magnetofluoresensi dari  $\text{AgInS}_2/\text{ZnS}$  QDs dan  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  NPM dengan BSA sebagai agen *binder* dan membuktikan NPs hibrid tersebut mampu berperan dengan baik pada diagnosa dan juga treatment penyakit kanker.<sup>34</sup> Penelitian lanjutan yang mendalami lebih lanjut peranan NPs dalam aplikasi kanker sangat diperlukan dan peluang aplikasi NPs ini pada bidang lainya (aplikasi pada virus HIV misalnya) akan lebih memperkaya pengetahuan terkait aplikasi nanoteknologi pada bidang medis. Pada penelitian sebelumnya, kami telah mengembangkan desain NPs magnetofluoresensi sebelumnya dengan menggabungkan nanopartikel karbon dots (CQDs) dan nanopartikel magnetik (NPM). Selanjutnya, tidak hanya BSA, pada penelitian ini akan digunakan makro molekul analog dari BSA, yakni HSA sebagai agen *binder* pada NPs magnetofluoresensi. Molekul berbasis asam boronat yang pada penelitian ini berupa *4-carboxybenzeneboronic acid* (CBBA), kemudian diikatkan secara kimiawi pada NPs magnetofluoresensi untuk membuatnya tertarget secara spesifik pada sel kanker. Potensi aplikasi dari NPs magnetofluoresensi ini pada penyakit kanker akan menjadi tujuan akhir aplikasi dari penelitian ini dan akan dilakukan secara berkelanjutan. Selain karakterisasi NPs magnetofluoresensi yang dihasilkan, analisa toksisitas dan stabilitasnya juga merupakan bagian penting dari penelitian ini. Investigasi *cellular uptake*, toksisitas, dan kemampuan NPs

magnetofluoresensi dalam diagnosa dan pengobatan terhadap beberapa jenis kanker akan dilakukan baik secara *in vitro* dan *in vivo* pada tahun kedua hingga uji klinis.

### 3.2 Perumusan Masalah

Masalah-masalah yang akan diangkat dalam proposal penelitian ini terangkum dalam beberapa poin berikut, antara lain:

- Bagaimanakah sintesis NPs magnetofluoresensi dari gabungan nanopartikel karbon dots dan nanopartikel  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ?
- Apakah BSA dan HSA mampu digunakan sebagai agen *binder* bagi NPs magnetofluoresensi?
- Bagaimanakah karakterisasi, stabilitas, dan tingkat toksisitas dari NPs magnetofluoresensi secara *in vitro* maupun *in vivo*?
- Mampukah NPs magnetofluoresensi yang dihasilkan untuk diaplikasikan dalam deteksi kanker dan berperan sebagai *drug delivery* untuk terapi kanker?



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Definisi Nanopartikel

Kajian nanomaterial merupakan suatu pondasi nanosains dan nanoteknologi yang memiliki potensi untuk merevolusi cara di mana bahan dan produk yang berdampak komersial yang signifikan di masa mendatang dalam dunia teknologi seperti elektronik, kedokteran dan bidang lainnya (Alagarasi, 2011). Pengembangan metode sintesis nanopartikel merupakan salah satu bidang yang menarik minat peneliti dalam pembuatan nanopartikel dengan ukuran yang kurang dari 100 nm yang memiliki sifat kimia dan fisika yang lebih baik dibandingkan dengan material sejenis yang memiliki ukuran lebih besar (Hosokawa *et al.*, 2007).

Material yang dapat menghasilkan berstruktur nano merupakan partikel-partikel penyusunnya harus diatur sedemikian rupa sehingga partikel-partikel tersebut bergabung menjadi material yang berukuran besar dan sifat materialnya dapat dipertahankan. Sifat material berstruktur nano sangat bergantung pada ukuran maupun distribusi ukuran, komponen kimiawi unsur-unsur penyusun material tersebut, keadaan di permukaan dan interaksi antar atom penyusun material nanostruktur. Keterkaitan sifat parameter-parameter di atas memungkinkan sifat material memiliki sifat stabilitas termal yang sangat tinggi (Nabok, 2000; Enggrit, 2011).

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel-partikel padatan dengan ukuran partikel berkisar 10 – 100 nm (Abdullah *et al.*, 2008). Material nanopartikel telah banyak menarik peneliti karena material nanopartikel menunjukkan sifat fisika dan kimia yang sangat berbeda dari bulk materialnya seperti kekuatan mekanik, elektronik, magnetik, kestabilan termal, katalitik, dan optik. Ada dua hal utama yang membuat nanopartikel berbeda dengan material sejenis dalam ukuran besar yaitu : (a) karena ukurannya yang kecil, nanopartikel memiliki nilai perbandingan antara luas permukaan dan volume yang lebih besar jika dibandingkan dengan partikel sejenis dalam ukuran besar. Hal ini membuat nanopartikel bersifat lebih reaktif. Reaktivitas material ditentukan oleh atom-atom di permukaan, karena hanya atom-atom tersebut



yang bersentuhan langsung dengan material lain; (b) ketika ukuran partikel menuju orde nanometer, hukum fisika yang berlaku lebih didominasi oleh hukum-hukum fisika kuantum (Abdullah *et al.*, 2008).

Sediaan nanopartikel dapat dibuat dengan berbagai metode, hingga saat ini ada beberapa metode pembuatan nanopartikel yang digunakan yaitu metode presipitasi, penggilingan (*milling methods*), salting out, fluida superkritis, polimerisasi monomer, polimer hidrofilik, dan dispersi pembentukan polimer (Soppimath, *et al.*, 2001; Mansouri, *et al.*, 2011).

## 2.2. Nanopartikel magnetik

Nanopartikel  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  memiliki sifat yang berbeda dibandingkan dengan material *bulk*-nya. Nanopartikel magnetit memiliki sifat superparamagnetik yaitu sifat material yang memiliki magnetisasi tinggi ketika diberi magnet eksternal, namun tidak ada medan magnet eksternal nilai magnetisasi rata-ratanya adalah nol. Bahan supermagnetik timbul dari bahan ferromagnetik yang berukuran sangat kecil (nano) yang membentuk domain magnetik yang mempunyai derajat kebebasan tinggi. Magnetik berpotensi besar digunakan pada bidang biosensor yang berperan sebagai bahan aktif yang dapat mengimmobilisasi analit pada permukaan sensor sehingga dapat meningkatkan kinerja biosensor tersebut (Riyanto *et al.*, 2012). Selain memiliki sifat paramagnetik, nanopartikel  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  juga memiliki luas permukaan dan luas pori yang lebih besar dibandingkan dengan  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  biasa sehingga lebih efektif bila digunakan sebagai adsorben.

Nanosains adalah salah satu penelitian yang paling penting dalam ilmu pengetahuan modern. Nanoteknologi merupakan ilmu yang mempelajari partikel dalam rentang ukuran 1-1000 nm (Buzea, *et al.*, 2007). Nanoteknologi mulai memungkinkan para ilmuwan, ahli kimia, dan dokter untuk bekerja di tingkat molekuler dan sel untuk menghasilkan kemajuan penting di bidang ilmu pengetahuan dan kesehatan. Penggunaan bahan nanopartikel menawarkan keuntungan besar karena ukuran mereka yang unik dan sifat fisikokimia. Penelitian nanopartikel sedang berkembang pesat karena dapat diaplikasikan secara luas seperti dalam bidang

lingkungan, elektronik, optis, dan biomedis (Jain, *et al.*, 2006; Stern dan McNeil, 2008).

Nanopartikel dapat terdiri dari bahan konstituen tunggal atau menjadi gabungan dari beberapa bahan. Nanopartikel di alam sering ditemukan dengan bahan aglomerasi dengan berbagai komposisi, sedangkan komposisi bahan murni tunggal dapat dengan mudah disintesis dengan berbagai metode. Berdasarkan sifat kimia dan elektromagnetik, nanopartikel dapat tersebar seperti aerosol, suspensi/koloid, atau dalam keadaan menggumpal. Sebagai contoh, nanopartikel magnetik cenderung mengelompok, membentuk sebuah aglomerat, kecuali permukaan mereka dilapisi dengan bahan non-magnetik, dan dalam keadaan menggumpal, nanopartikel dapat berperilaku sebagai partikel yang lebih besar, tergantung pada ukuran aglomerat tersebut (Buzea, *et al.*, 2007).

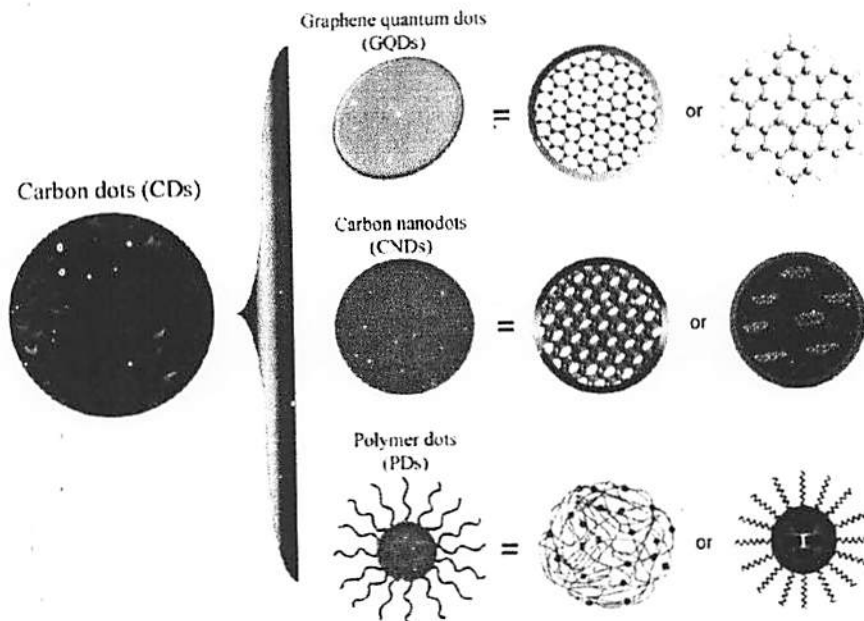
Nanopartikel magnetik saat ini banyak digunakan karena memiliki sifat magnetik yang unik yang dapat dimanfaatkan sebagai katalisis, bioteknologi, dan biomedis. Pada bidang biomedis nanopartikel magnetik dimanfaatkan untuk agen pengontras *Magnetik Resonance Imaging* (MRI), pendeteksi kanker, dan pembentukan koloid untuk pengiriman obat pada sel kanker (Fahmi dan Chang, 2014). Berdasarkan sifat kemagnetan dari suatu material, material dikelompokkan menjadi tiga bagian yaitu diamagnetik, paramagnetik, dan ferromagnetik (Pang *et al.*, 2011). Nanopartikel magnetik juga dapat bersifat superparamagnetik yaitu sifat dari suatu partikel yang apabila diberi medan magnet eksternal akan memiliki magnetisasi yang tinggi, namun sifat magnetnya rendah atau 0 apabila tidak ada medan magnet eksternal. Sifat tersebut berasal dari sifat ferromagnetik yang berukuran kecil (nano) yang membentuk domain magnetik. Sifat superparamagnetik dapat diperoleh apabila ukuran nanopartikel magnetik semakin kecil, maka interaksi antarmolekul semakin kecil pula (Pang *et al.*, 2011).

### 2.3. Nanopartikel carbon dots/graphene dots

Nanopartikel karbon dots merupakan material baru dari golongan karbon yang telah dikembangkan beberapa tahun terakhir. Karakteristik utama nanopartikel karbon

dots adalah sifat fotoluminisensi yang tinggi. Kelebihan nanopartikel karbon dots antara lain memiliki ukuran nanometer sehingga luas permukaannya besar, larut dalam air, toksisitas rendah, memiliki sifat fotoluminisensi dan biokompatibilitas tinggi. Nanopartikel karbon dots mengandung banyak gugus karboksilat dan alkohol di permukaan nanopartikel karbon dots, sehingga membuat kelarutannya dalam air tinggi dan mudah berikatan dengan senyawa-senyawa hidrofilik. Hasil pengukuran NMR menunjukkan bahwa nanopartikel karbon dots terdiri dari karbon hibridisasi  $sp^2$  yang terisolasi oleh karbon hibridisasi  $sp^3$ <sup>35</sup>.

Sejauh ini nanopartikel karbon dots digolongkan menjadi tiga yaitu: grafen kuantum dots, karbon nanodots, dan polimer dots. Perbedaan secara sekilas dari ketiga nanopartikel karbon ditampilkan dalam Gambar 1. Grafen kuantum dots memiliki sedikit struktur grafen, dimana pada tepi grafen kuantum dots dapat berikatan dengan suatu gugus fungsi. Karbon nanodot berbentuk bulat dan tersusun atas 2 jenis yaitu nanopartikel karbon tanpa kisi kristal dan karbon kuantum dots yang memiliki kisi kristal. Sedangkan polimer dots merupakan kumpulan dari polimer linier atau monomer, selain itu inti karbon dan rantai polimer juga terhubung dan berkumpul untuk membentuk polimer dots<sup>36</sup>.



Gambar 1 Jenis-jenis nanopartikel karbon dots.<sup>36</sup>

#### 2.4. Nanopartikel sebagai Sistem Penghantaran Tertarget

Beberapa kelebihan nanopartikel adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Buzea *et al.*, 2007), kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi, baik melalui difusi maupun opsonifikasi, dan fleksibilitasnya untuk dikombinasi dengan berbagai teknologi lain sehingga membuka potensi yang luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Kelebihan lain dari nanopartikel adalah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama (Kawashima, 2000). Pembentukan nanopartikel dapat dicapai dengan berbagai teknik yang sederhana. Nanopartikel pada sediaan farmasi dapat berupa sistem obat dalam matriks seperti nanosfer dan nanokapsul, nanoliposom, nanoemulsi, dan sebagai sistem yang dikombinasikan dalam perancah (*scaffold*) dan penghantaran transdermal.

Pengembangan penghantaran obat tertarget berfungsi untuk meningkatkan efektivitas dan efisiensi obat yang diaplikasikan, sekaligus keamanan penggunaan obat

karena mencegah obat untuk bereaksi pada tempat yang tidak diharapkan. Penghantaran obat jenis ini secara umum dipahami sebagai hubungan ligan dengan ligan, ligan dengan protein, atau protein dengan protein, karena kesesuaian interaksi spesifik dapat diketahui dari fenomena kimiawi tersebut. Pemanfaatan protein sebagai konjugat sistem nanopartikel adalah memanfaatkan kekhasan dari polimer protein. Polimer ini tidak terbentuk atas monomer yang terus berulang seperti halnya pada polimer secara umum. Asam amino penyusun suatu protein dapat membentuk kombinasi urutan yang tak terbatas, membentuk sifat yang sangat spesifik dari tiap protein, sehingga dapat mengadakan suatu interaksi yang sangat spesifik pula. Oleh karena itu, protein banyak digunakan sebagai konjugat dalam sistem penghantaran obat. Polimer lain seperti derivat gula juga cukup banyak dipresentasikan karena gula merupakan komponen membran seluler yang dapat juga secara spesifik terdapat pada sel tertentu (Ronny, 2012).

Kemampuan nanopartikel untuk meningkatkan ketersediaan hayati obat dengan kelarutan yang rendah dalam sirkulasi sistemik telah banyak dibuktikan (Bhatia *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2005). Kemampuan ini berlaku umum pada berbagai aplikasi penghantaran (Gelperina *et al.*, 2005): oral (Martien *et al.*, 2006), intravena (Li *et al.*, 2009), pulmonar (Tonniss *et al.*, 2012; Muttil *et al.*, 2010), dan transdermal (Ravichandran, 2009). Peningkatan jumlah obat dalam darah pada penghantaran sistemik juga akan meningkatkan resiko munculnya efek samping maupun efek balik, hingga pada resiko tercapainya batas kadar toksik (Poelstra *et al.*, 2012). Pada banyak kasus, peningkatan kadar obat dalam darah ini sangat diperlukan bagi obat untuk dapat menimbulkan efek farmakologis. Oleh karena itu, nanopartikel memberikan solusi yang baik karena dapat memberikan efek farmakologis pada dosis yang lebih kecil (efisien) (Hu dan Li, 2011; Wu *et al.*, 2005).

## 2.5. Albumin

Albumin (bahasa Latin: *albus, white*) adalah istilah yang digunakan untuk merujuk ke segala jenis protein monomer yang larut dalam air dan larutan garam, dan mengalami koagulasi saat terpapar panas. Substansi yang mengandung albumin,

seperti putih telur, disebut albuminoid. Pada manusia, albumin diproduksi oleh retikulum endoplasma di dalam hati dalam bentuk proalbumin, kemudian diiris oleh badan golgi untuk disekresi memenuhi sekitar 60% jumlah serum darah dengan konsentrasi antara 30 hingga 50 g/L dengan waktu paruh sekitar 20 hari. Albumin memiliki berat molekul sekitar 65 kD dan terdiri dari 584 asam amino tanpa karbohidrat. Gen untuk albumin terletak pada kromosom 4, dengan panjang sekitar 16.961 nukleotida dengan 15 ekson yang terbagi ke dalam 3 domain simetris, sehingga diperkirakan merupakan triplikasi dari domain primordial yang tunggal. Tiap domain terbagi lagi menjadi masing-masing 2 sub-domain. Mutasi pada gen ini dapat mengakibatkan berbagai macam protein dengan fungsi yang tidak beraturan (bahasa Inggris: *anomalous protein*), oleh karena perubahan sifat pada domain penyerapnya. Oleh karena itu, spesi reaktif oksigen, spesi reaktif nitrogen dan produk dari hasil reaksi dengan biomolekul lain seperti produk peroksidasi lipid, terjadi secara fisiologi dan patofisiologi dengan adanya albumin.

Albumin merupakan protein plasma yang paling banyak dalam tubuh manusia, yaitu sekitar 55-60% dan total kadar protein serum normal adalah 3,8-5,0 g/dl. Albumin terdiri dari rantai tunggal polipeptida dengan berat molekul 66,4 kDa dan terdiri dari 585 asam amino. Pada molekul albumin terdapat 17 ikatan disulfida yang menghubungkan asam-asam amino yang mengandung sulfur. Molekul albumin berbentuk elips sehingga dengan bentuk molekul seperti itu tidak akan meningkatkan viskositas plasma dan larut sempurna. Kadar albumin serum ditentukan oleh fungsi laju sintesis, laju degradasi, dan distribusi antara kompartemen intravaskular dan ekstrasvaskular. Cadangan total albumin 3,5-5,0 g/kg BB atau 250-300 g pada orang dewasa sehat dengan berat 70 kg, dari jumlah ini 42% berada di kompartemen plasma dan sisanya di dalam kompartemen ekstrasvaskular (Evans, 2002). Albumin manusia (human albumin) dibuat dari plasma manusia yang diendapkan dengan alkohol. Albumin secara luas digunakan untuk penggantian volume dan mengobati hipalbuminemia (Uhing, 2004; Boldt, 2010).

Berdasarkan fungsi dan fisiologis, secara umum albumin di dalam tubuh mempertahankan tekanan onkotik plasma, peranan albumin terhadap tekanan onkotik

plasma mencapai 80 % yaitu 25 mmHg. Albumin mempunyai konsentrasi yang tinggi dibandingkan dengan protein plasma lainnya, dengan berat molekul 66,4 kDa lebih rendah dari globulin serum yaitu 147 kDa, tetapi masih mempunyai tekanan osmotik yang bermakna. Efek osmotik ini memberikan 60 % tekanan onkotik albumin. Sisanya 40 % berperan dalam usaha untuk mempertahankan intravaskular dan partikel terlarut yang bermuatan positif (Nicholson dan Wolmaran, 2000; Dubois dan Vincent, 2002).

## BAB III

### TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

#### 3.1 Tujuan

Penelitian ini secara umum akan difokuskan pada pengembangan desain NPs magnetofluoresensi yang menggabungkan nanopartikel karbon dots dan nanopartikel  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  dengan albumin sebagai agen pengikat kedua NPs tersebut. NPs magnetofluoresensi yang dihasilkan kemudian akan dikaji potensinya dalam penanggulangan penyakit kanker. Selain itu, tujuan utama pada penelitian ini adalah memperoleh bahan referensi bagi pengembangan diagnosa penyakit kanker yang melibatkan nanoteknologi. Secara khusus, penelitian ini memiliki beberapa tujuan, antara lain:

- Mengetahui proses sintesis NPs magnetofluoresensi dari gabungan nanopartikel karbon dots dan nanopartikel  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ .
- Mengkaji kemampuan BSA dan HSA yang akan digunakan sebagai agen *binder* bagi NPs magnetofluoresensi.
- Mengetahui hasil karakterisasi, stabilitas, dan tingkat toksisitas dari NPs magnetofluoresensi secara *in vitro* maupun *in vivo*.
- Meneliti kemampuan NPs magnetofluoresensi yang dihasilkan untuk diaplikasikan dalam deteksi kanker dan berperan sebagai *drug delivery* untuk terapi kanker.

#### 3.2 Penerapan Hasil Kegiatan

Pentingnya penelitian ini menyangkut beberapa aspek, seperti aspek ilmiah, aspek praktis, dan aspek ekonomi.

Dari aspek ilmiah, penelitian ini akan memberikan informasi ilmiah tentang peluang nanoteknologi dalam memenuhi kebutuhan dalam bidang kesehatan, khususnya pada penanggulangan penyakit kanker. Pada proposal ini kami menargetkan terbentuknya buku referensi yang nantinya dijadikan acuan/bahan ajar pada salah satu mata kuliah di universitas Airlangga.





Dari aspek praktis, desain NPs magnetofluoresensi pada penelitian ini diharapkan memiliki kemampuan multifungsi. Untuk aplikasi pada sel kanker, NPs ini diharapkan memiliki kemampuan *dual-staining* yaitu aktif-fotoluminisensi dan aktif-resonansi magnetik, serta memiliki kemampuan sebagai pembawa obat menuju sel kanker.

Dari aspek ekonomi, hasil penelitian ini diharapkan akan memiliki nilai ekonomis, karena mampu memiliki beberapa fungsi sekaligus sehingga dapat menghemat biaya, waktu, dan tenaga pada penanggulangan penyakit kanker.



## BAB IV

### METHOD PENELITIAN

#### 4.1. Pendekatan Teoritik

Penelitian ini berupaya mengabungkan dua nanopartikel dan mengikatnya dengan albumin, yang selanjutnya diaplikasikan pada kanker. Pengikatan dengan albumin memungkinkan obat kanker, yang umumnya bersifat hidrofobik, untuk dimuatkan membentuk NPs hibrid dengan kemampuan multifungsi. Adapun pendekatan teoritik pada penelitian ini akan disajikan dalam bentuk prosedur penelitian yang terdiri atas beberapa tahapan, antara lain :

##### 4.1.1. Sintesis Karbon dots NPs(CQDs)

Pada tahapan ini akan disintesis CQDs menggunakan metode *pyrolysis* dari senyawa citric acid (CA). Pada suhu tinggi, senyawa ini akan membentuk struktur mirip grafin yang untuk selanjutnya disebut dengan CQDs. Secara eksperimen, 5 mol dari CA dimasukkan dalam *furnace* untuk proses *pyrolysis* pada suhu 240°C selama 4 jam. Material yang dihasilkan kemudian dilarutkan dalam larutan NaOH 1M sampai mencapai pH netral. CQD akan dihasilkan setelah larutan dimurnikan dengan penyaringan dan dialisis. Pemanasan dilakukan untuk menghilangkan air dan mendapatkan padatan CQDs

##### 4.1.2. Sintesis MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NPs

Sintesis NPs ini menggunakan metode *solvothermal* dengan mereaksikan campuran Mn(acac)<sub>3</sub>, Fe(acac)<sub>3</sub>, benzil eter, dan oleylamine pada suhu 300 °C selama satu jam dalam aliran gas nitrogen. NPs yang terbentuk akan bersifat hidrofobik karena adanya rantai hidrokarbon yang melingkupi NPs. Selanjutnya, Pemurnian nanopartikel dilakukan dengan bantuan etanol dan proses sentrifugasi (6000 rpm, 10 menit).

##### 4.1.3. Pembentukan NPs magnetofluoresensi (NPs hibrid)

Pembentukan NPs hibrid merupakan proses dimana kedua NPs yang telah disintesis sebelumnya digabungkan sehingga memperoleh material baru dengan kombinasi sifat material penyusunnya. Secara detail, sebanyak 2.5 mg MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NPs

dilarutkan 1 ml heksen, kemudian dicampurkan pada 10 mL larutan DI-water yang telah terlarut didalamnya 2,5 mg CQDs; 200 mg albumin BSA. Campuran kemudian diultrasonikasi selama 2 min. Setelah didiamkan selama 3 jam, NPs hibrid didapatkan dari permurnian melalui penyaringan (filter 0,22 $\mu$ m) dan proses dialisis (MWCO 1000). Selain pada BSA pelakuan diatas juga dilakukan pada albumin HSA.

#### **4.1.4. Mengikatkan 4-carboxybenzeneboronic acid (CBBA) pada NPs magnetofluoresensi dan pemuatan Doxorubicin pada NPs Hibrida**

Pembentukan NPs Magnetofluoresensi beratribut asam boronat dilakukan dengan mengkonjugasikan CBBA pada NPs Magnetofluoresensi dengan menggunakan reaksi kimia. paket reaktan n-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) dan N-hydroxysulfosuccinimide sodium salt (NHS) digunakan untuk membentuk fasa intermediet guna mempermudah konjugasi CBBA pada NPs Magnetofluoresensi. Produk NPs Magnetofluoresensi beratribut asam boronat kemudian dikarakterisasi setelah dimurnikan melalui beberapa dialisis (MWCO 3000). Detail eksperimen akan mengikuti beberapa publikasi ilmiah yang telah kami dibuat sebelumnya.<sup>34</sup>

Untuk pemuatan Dox pada nanopartikel dilakukan dengan mencampurkan 20 mg/mL koloid NPs Magnetofluoresensi dengan 50 mg of Dox dengan proses pencampuran pada stirer selama 1 jam.

#### **4.1.5. Karakterisasi NPs magnetofluoresensi**

Seluruh NPs hasil sintesis akan dilakukan karakterisasi yang meliputi karakterisasi morfologi, struktur kristal, gugus fungsi, komposisi, sifat optik, dan kemagnetan.

#### **4.1.6. Evaluasi kestabilan dan toksisitas.**

Kestabilan NPs hibrida terhadap perubahan pH, kekuatan ionik dan temperatur merupakan bagian dari evaluasi kestabilan yang direncanakan, hal ini terkait dengan tujuan aplikasi NPs hibrida nantinya pada biomedis. Analisa toksisitas dari NPs juga merupakan bagian penting dari riset ini. Riset ini merencanakan untuk melakukan analisa toksisitas melalui metode MTT secara *in vitro* (menggunakan beberapa contoh sel kanker).

#### 4.1.7. Penyelidikan potensi NPs Magnetofluoresensi pada sel kanker

Tahapan ini merupakan tahap aplikasi dari proses penelitian, dimana akan dievaluasi potensi NPs magnetofluoresensi sebagai agen pendeteksi ganda dan pengobatan pada sel kanker. Direncanakan akan digunakan 2 jenis sel kanker yaitu sel kanker hati (HeLa) dan sel kanker payudara (MCF-7). Adapun tahapan prosen ini antara lain:

1. Pemuatan obat anti kanker (Dox) pada NPs magnetofluoresensi.
2. Uji pola *release* obat dengan sistem dialisis.
3. Evaluasi *in vitro* dan *in vivo* kemampuan NPs magnetofluoresensi untuk mengarah pada sel kanker dengan *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM), MRI, dan *flow cytometry*.

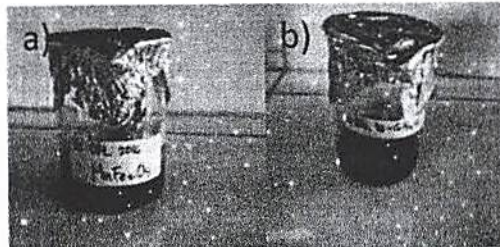
## BAB V

### HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

#### 5.1. Hasil

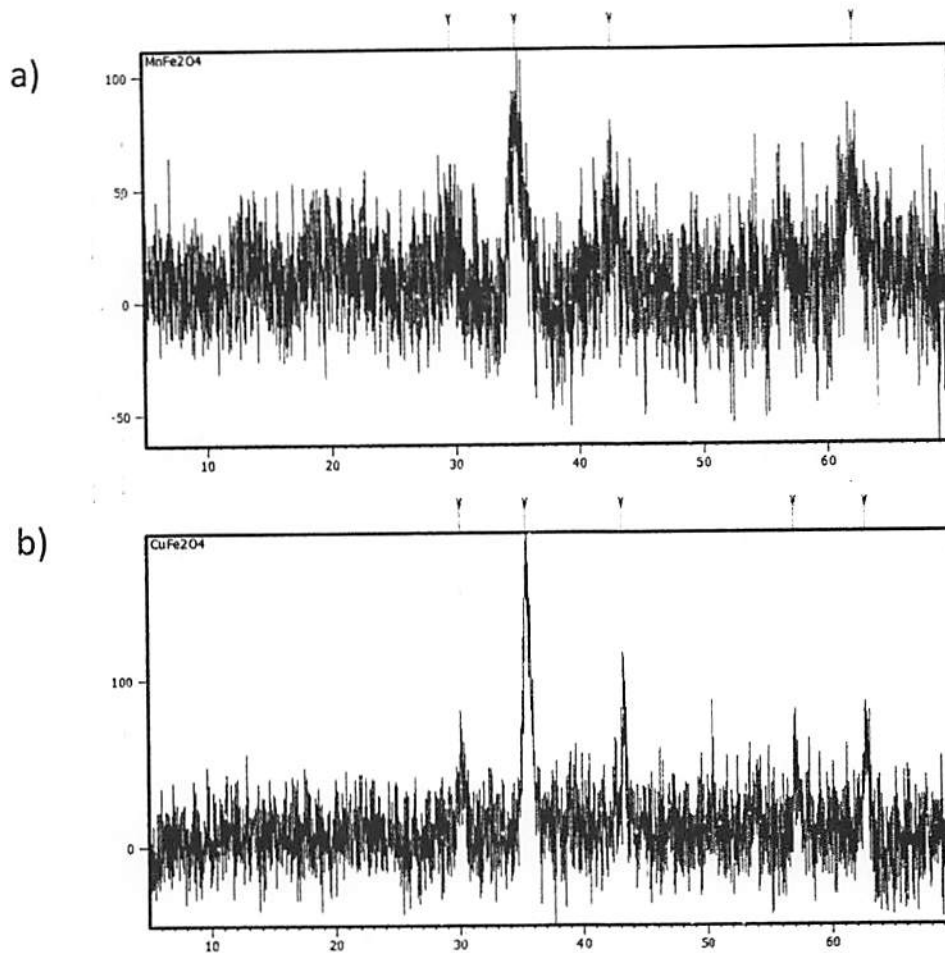
##### 5.1.1. Sintesis Nanopartikel Magnetik

Pada penelitian ini, disintesis 2 jenis nanopartikel magnetic, yakni  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  dan  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  nanopartikel yang bersifat hidrofob. Sintesis nanopartikel magnetik dalam penelitian ini menggunakan bahan kimia diantaranya  $\text{Mn}(\text{acac})_2$  dan  $\text{Cu}(\text{acac})_2$  yang bertindak sebagai sumber  $\text{Mn}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$ , serta  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  yang bertindak sebagai sumber  $\text{Fe}^{3+}$ . Proses sintesis menggunakan metode solvotermal dimana suhu reaksi diatur pada  $300^\circ\text{C}$  selama 1 jam dibawah aliran gas Nitrogen ( $\text{N}_2$ ). Produk sintesis nanopartikel magnetik  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  ditampilkan pada Gambar 2. yang memiliki warna hitam kecoklatan sebanyak 30 ml dengan nilai pH sebesar 6.



**Gambar 2.** Produk sintesis nanopartikel magnetik  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  (a) dan  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$

Setelah melewati beberapa tahapan didapatkan pemurnian didapatkan koloid nanopartikel magnetik yang siap untuk proses selanjutnya. Dalam karakterisasi nanopartikel ini, kepastian struktur  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  (a) dan  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  didapatkan melalui analisa XRD (Gambar 3) dimana pola difraksi  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  sesuai dengan JCPDF 74-240 dan difraksi  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  sesuai dengan JCPDF 34-0425. Selain itu juga dilakukan analisa distribusi ukuran partikel dan TEM yang juga menguatkan bahwa terbentuk (data tidak ditampilkan).

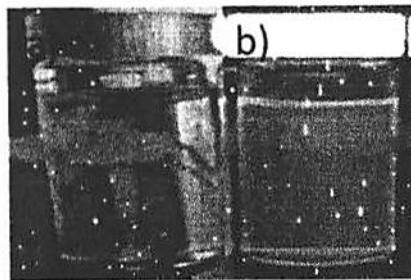


**Gambar 3.** Difraktogram nanopartikel magnetik magnetik  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  (a) dan  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  (b)

### 5.1.2 Sintesis karbon dots

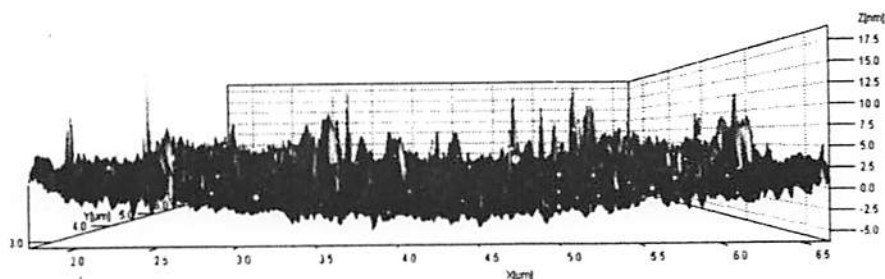
Sintesis nanopartikel karbon dots dari asam sitrat diawali dengan proses pirolisis 200 mg asam sitrat dalam *furnace* pada temperatur  $200^\circ\text{C}$  selama 30 menit sebagai melelehkan asam sitrat dan tahap awal karbonisasi. Setelah itu, temperatur dinaikkan dengan variasi temperatur  $200^\circ\text{C}$ ,  $250^\circ\text{C}$ ,  $300^\circ\text{C}$ ,  $350^\circ\text{C}$  dan  $400^\circ\text{C}$  pada masing-masing asam sitrat selama 2 jam untuk penyusunan kembali struktur karbon dalam ukuran nanometer. Perlakuan variasi temperatur untuk mendapatkan nanopartikel karbon dots yang optimum. Hasil pirolisis didinginkan pada temperatur ruang, kemudian dilarutkan dengan 2 mL NaOH 0,5 M. Tujuan penambahan NaOH untuk

menjaga nanopartikel karbon dots agar tidak saling gabung antar nanopartikel. Hasil kelarutan tertinggi nanopartikel karbon dots terhadap NaOH 0,5 M terjadi pada temperatur 250°C dibandingkan dengan hasil pelarutan pada temperatur 200°C dan 300°C, sedangkan hasil pirolisis asam sitrat pada temperatur 350°C dan 400°C menghasilkan kerak yang tidak larut NaOH, sehingga pemilihan nanopartikel karbon dots untuk modifikasi dengan CBBA adalah nanopartikel karbon dots pada proses pirolisis 250°C.



**Gambar 4.** Hasil Penyinaran dengan lampu UV 365 nm dengan urutan dari kiri: air dan nanopartikel karbon dots pada temperatur pemanasan 250°C.

Hasil pelarutan disaring dengan membran berukuran 0,22  $\mu\text{m}$  pada gelas beker untuk memisahkan partikel berukuran besar. Hasil penyaringan dilanjutkan proses dialisis dengan membran MWCO 1000 Da untuk memisahkan filtrat-filtrat yang berukuran kecil (lebih kecil dari 1 nm). Hasil karbon dots yang telah disintesis dapat menunjukkan kemampuan fluoresensi oleh karbon dots jika dipapar sinar UV pada panjang gelombang 365 nm, ditunjukkan pada Gambar 4. Selanjutnya juga dilakukan analisa fluoresensi, distribusi ukuran partikel DLS (tidak ditunjukkan) dan morfologi AFM dari carbon dots yang terbentuk (Gambar 5).



**Gambar 5.** Hasil analisis nanopartikel karbon dots dengan AFM dalam bentuk 3 dimensi.

Lebih lanjut, peneliti juga berupaya mensintesis carbon dots yang bersifat hidrofob, tetapi usaha ini mengalami kendala terkait metode sintesis yang sesuai. Carbon dots yang bersifat hidrofob disintesis dengan bahan dasar paraplast dengan belarut toluene dan ligan dodecanothiol. Hingga laporan ini dibuat upaya untuk mensintesis karbon dots hidrofob masih berlangsung. Disamping itu, bahan asam sitrat dan asam laurat juga digunakan untuk mensintesis graphen oksida yang merupakan produk samping dari sintesis karbon dots. Bahan ini kemudian dimanfaatkan pada proses hemodialysis sebagai campuran bahan baku utama modul hemodialiser, yakni polymer (PES).

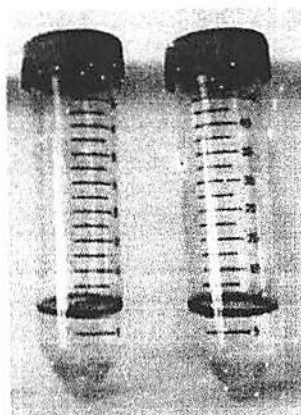
### 5.1.3. Proses Pembentukan Magnetofluoresensi (NPs Hibrid)

Percampuran nanopartikel magnetik  $MnFe_2O_4$  dan karbon dots dengan *Bovine Serum Albumin* (BSA) bertujuan agar terbentuknya akumulasi nanopartikel yang bersifat multi fungsi dan nanopartikel magnetik  $MnFe_2O_4$  yang pada mulanya tidak larut dalam air menjadi larut dalam air. Percampuran tersebut diawali dengan menyiapkan 2,5 mg nanopartikel magnetik  $MnFe_2O_4$  yang dilarutkan dalam 0,5 mL n-heksana. Di lain pihak, larutan DI-water yang telah terlarut didalamnya 2,5 mg CQDs dan 200 mg albumin BSA.

Kedua larutan tersebut dicampurkan dan membentuk 2 lapisan yang tidak saling bercampur seperti yang ditampilkan pada Gambar 6. Larutan yang berwarna hitam kecoklatan yang berada di bagian atas adalah campuran larutan antara nanopartikel magnetik  $CuFe_2O_4$  dengan n-heksana dan larutan yang bening adalah campuran antara *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan akuades. Larutan campuran



nanopartikel magnetik  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  dengan n-heksana berada dibagian atas karena berat jenis n-heksana lebih ringan jika dibandingkan dengan air.



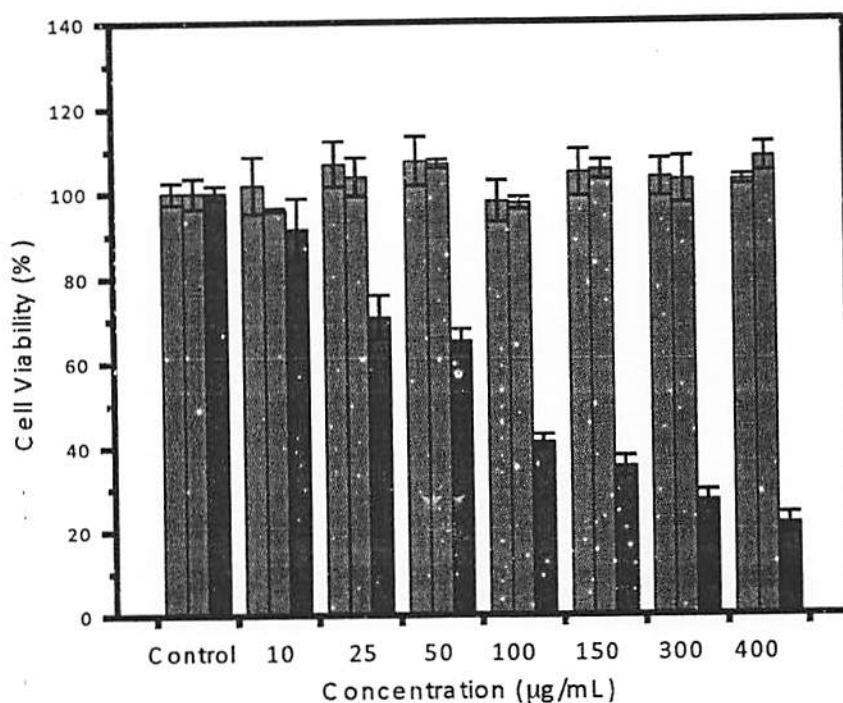
**Gambar 6** Campuran  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  (kanan) dan  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  (kiri). Fasa atas terdiri dari nanopartikel magnetik dan fasa bawah merupakan carbon dots dalam air.

Nanopartikel hybrid yang telah didapatkan kemudian dilakukan karakterisasi diantaranya TEM, DLS dan beberapa uji kesetabilan (pH, kekuatan ionik dan termal).

#### 5.1.4 Studi *in vitro* terhadap Desain Magnetofluoresensi

Dari hasil magnetofluoresensi yang diperoleh, kemudian dilakukan uji toksisitas melalui analisa MTT dan flow cytometri. Dalam uji toksisitas ini, senyawa MTT digunakan sebagai marker dimana senyawa ini akan direduksi oleh senyawa yang dihasilkan oleh membran cell yang hidup and menghasilkan formozan yang berwarna merah keunguan ketika dilarutkan dengan DMSO. Intesitas warna ini sebanding dengan jumlah sell yang hidup, sehingga jumlah sel yang hidup dapat dilacak secara spektroskopi. Hasil analisa MTT diperlihatkan pada Gambar 7 di tunjukkan bahwa baik NPs Magnetofluoresensi dan NPs Magnetofluoresensi terkonjugasi-CBBA tidak menyebabkan kematian terhadap sel, jika dibandingkan dengan sel kontrol atau sel yang tidak diberikan NPs, jumlah sel terus terus berkembang di atas 80%. Hal ini menunjukkan bahwa kedua jenis NPs tidak memiliki sifat toksik. Lebih lanjut, penambahan Dox memberikan efek penurunan terhadap jumlah sel HeLa, hal ini sesuai dengan fungsi sel HeLa sebagai obat kanker yang komersial dan juga

menunjukkan bahwa Nps dapat berperan sebagai agen pengantar obat pada penanggulangan kanker.

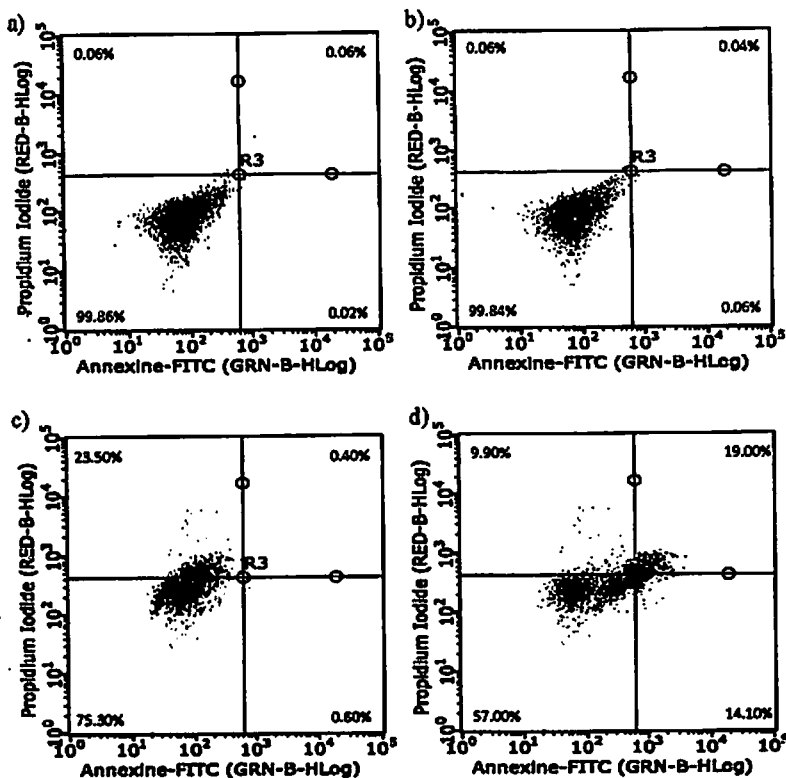


**Gambar 7.** Data MTT dari NPs Magnetofluoresensi (coklat); NPs Magnetofluoresensi terkonjugasi-CBBA (hijau); dan Magnetofluoresensi terkonjugasi-CBBA setelah dimuati Dox. Analisa dilakukan triplo pada masing-masing variasi.

### 5.1.5 Analisa toksitas secara *in vitro* dengan flowcytometry.

Pada analisa ini telah dilakukan pengkajian NPs Magnetofluoresensi terhadap kematian sel secara apoptosis atau nekrosis. Kematian sel secara apoptosis merupakan kematian sel secara terencana karena adanya material yang sengaja atau diarahkan untuk membunuh sel, sedangkan nekrosis merupakan kematian sel yang tidak terencana atau tidak terkontrol. Pada analisa ini di digunakan marker AnnexinV-FITC dan Propidium Iodide (PI) sebagai marker untuk apoptosis dan nekrosis. Proses apoptosis dikenal sebagai proses dimana sel akan terpecah dan sisi aktif postridine (PS) yang sebelumnya ada dibagian dalam membran berganti kesisi luar membran dan akan berikatan dengan FITC yang kemudian bisa diakses dengan flowsitometri karena terdapat fluoresensi dari FITC. Sedangkan PI memiliki afinitas sangat kuat terhadap DNA yang kanat berikatan ketika inti sel hancur karena nekrosis. PI memiliki

fluoresensi berwarna merah. Pada Gambar 8. dapat diketahui bahwa adanya NPs Magnetofluoresensi (MNPs-CD) dan CBBA terkonjugasi Magnetofluoresensi (CBBA-MNPs-CD) tidak mengarahkan kepada apoptosis karena sebagian besar distribusi fluoresensi berada di kuadran I yang sama seperti kontrol, meskipun 21.5% sel berada di kuadran 3 yang menunjukkan tingginya kemungkinan nekrosis terjadi. Sedangkan apoptosis terjadi saat sel diinkubasi setelah CBBA-MNPs-CD loadingkan dengan Dox. Hal ini menunjukkan bahwa nanoptikel berperan baik saat karena tidak memiliki sifat toksik dan dapat digunakan sebagai pengantar obat pada sel HeLa.

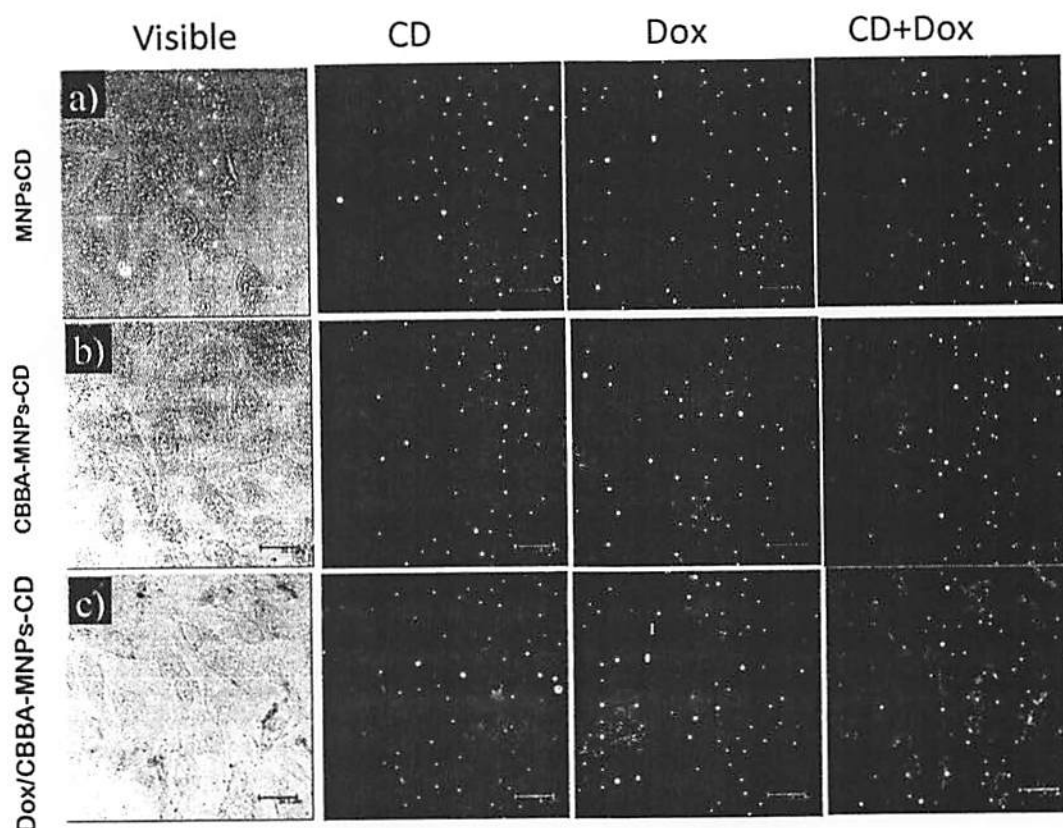


**Gambar 8.** Data flow sitometri dari sel HeLa sebelum (a) dan setelah diinkubasi selama 1 jam dengan NPs Magnetofluoresensi (MNPs-CD, b); CBBA terkonjugasi NPs Magnetofluoresensi (CBBA-MNPs-CD, c); and Dox-CBBA terkonjugasi NPs Magnetofluoresensi (Dox/CBBA-MNPs-CD).

### 5.1.6 Analisa konfokal

Dalam analisa ini, akan dikaji sifat optik yang dimiliki oleh MNPs-CD serta pengaruhnya setelah dimodifikasi dengan CBBA dan Dox. Pada Gambar 9. ditunjukkan bahwa MNPs-CD tidak masuk dalam sel Hela yang mengindikasikan tidak ada CD yang masuk dalam sel, tetapi hal ini setelah adanya CBBA dalam MNPs-CD,

semakin banyak CD yang bisa masuk kedalam sel, ditunjukkan dengan adanya fluoresensi warna hijau pada sitoplasma dari sel HeLa (Gambar 8b).



**Gambar 9.** Gambar konfokal dari sel hela setelah di inkubasi dengan MNP's-CD (a); CBBA-MNP's-CD (b); dan Dox/CBBA-MNP's-CD (c) selama 1 hr.

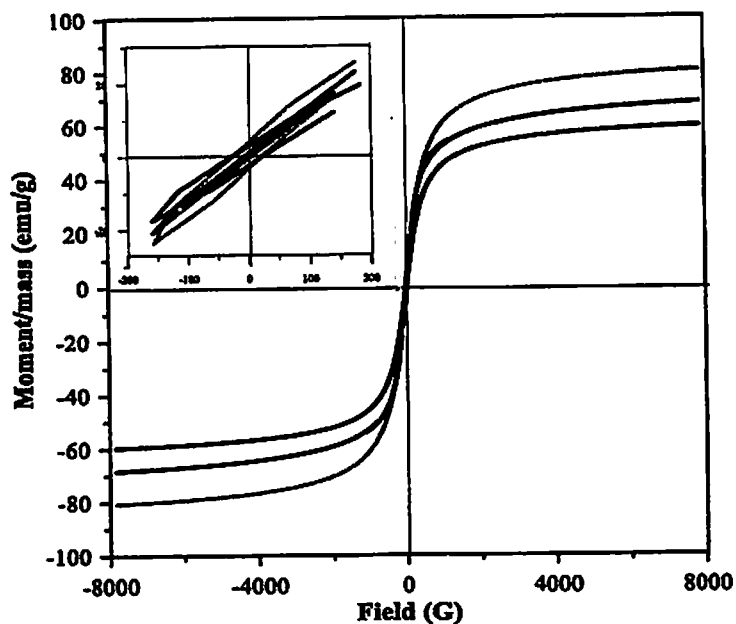
### 5.1.7 Analisa kemagnetan

Kemampuan nanopartikel yang dihasilkan sebagai agen pengkontras dapat dikaji dengan mengetahui tingkat kemagnetan dari nanopartikel. Salahsatunya di ketahui dengan instrumet *Vibrating Sample Mangnetometer* (VSM) sebagaimana ditunjukkan Pada gambar 11.

Material ruah  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  (MNPs) bersifat feromagnetik dengan koersivitas, magnetisasi remanen yang besar serta memiliki nilai magnetisasi saturasi sebesar 92-100 emu/g. Semakin kecil ukuran kristal maka jumlah domain magnetiknya semakin sedikit yang mengakibatkan nilai magnetisasi saturasi menjadi kecil. Apabila ukuran material  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  lebih kecil dari 10 nm maka dimungkinkan nilai magnetisasi

saturasi material menjadi berkurang serta sifat kemagnetannya berubah dari ferromagnetik menjadi superparamagnetik.

Sampel dalam bentuk serbuk dimasukkan dalam instrumen VSM untuk kemudian diberikan medan magnet eksternal. Data VSM yang dihasilkan berupa kurva histerisis yang ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 10. Kurva histerisis momen magnet senyawa MNPs (hijau), MNPs-CD (biru), dan CBBA-MNPs-CD (Merah).

Table 1. Data hasil pengukuran sampel menggunakan Instrumen VSM

No	Sampel	Magnetisasi saturasi (emu/g)	Koersivitas (G)	Mr (magnetisasi remanen) (emu/g)
1	MNPs	59,573	25,462	2,6785
2	MNPs-CD	68,379	5,637	0,71769
3	CBBA-MNPs-CD	80,569	24,460	3,6172

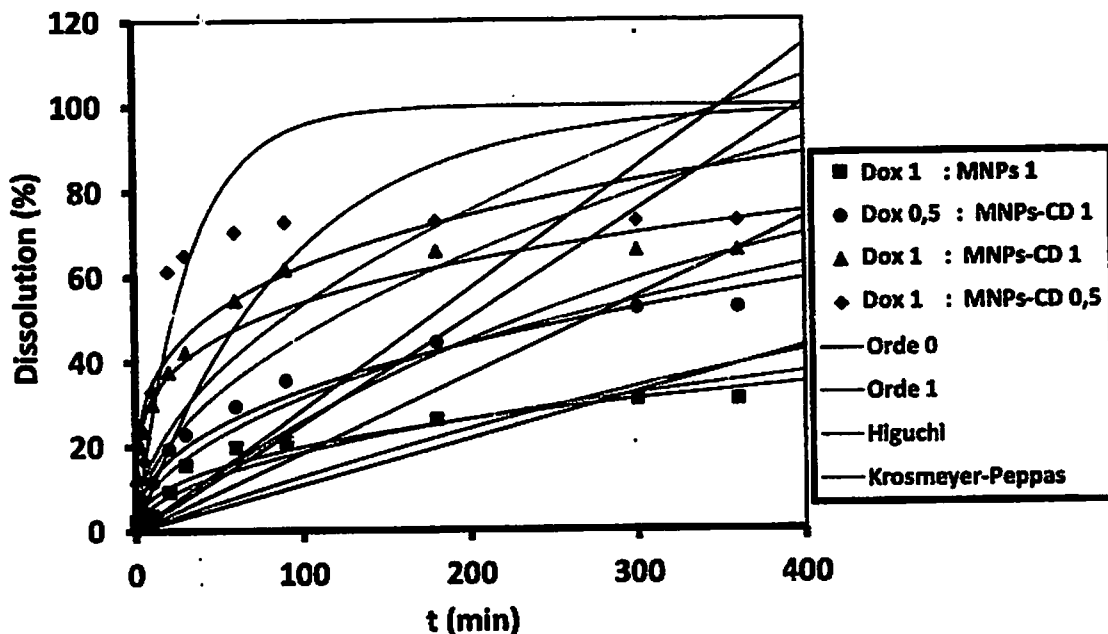
Berdasarkan data pada Tabel 1., MNPs (hijau), MNPs-CD (biru), dan CBBA-MNPs-CD memiliki magnetisasi saturasi masing-masing sebesar 59,573 emu/g, 68,379 emu/g, 80,569 emu/g. Nilai tersebut lebih kecil dibandingkan dengan material ruah  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$  (92-100 emu/g) yang menandakan bahwa ketiga sampel memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan material ruah  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$ . Rasio nilai magnetisasi

saturasi ketiga sampel jika dibandingkan material ruah  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  yaitu sebesar 64,75%, 74,33 %, dan 87,58%,

Jika kurva histerisis sampel diperbesar, maka dapat diketahui bahwa sampel memiliki nilai koersivitas yang sangat kecil yaitu masing masing sebesar 25,462 G, 5,637 G, dan 24,460 G serta magnetisasi remanen yang mendekati nol dengan nilai masing masing sebesar 2,6785 emu/g, 0,71769 emu/g, dan 3,6172 emu/g . Berdasarkan data koersivitas dan magnetisasi remanen tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa ketiga sampel bersifat superparamagnetik.

### 5.1.8 Pengujian pola release nanopartikel

Profil pelepasan obat doxorubicin (DOX) dilakukan untuk mengetahui dan membandingkan pola pelepasan obat dari Dox/CBBA-MNPs-CD nanopartikel hibrida dengan beberapa model kinetika pelepasan obat. Mekanisme pelepasan obat dari

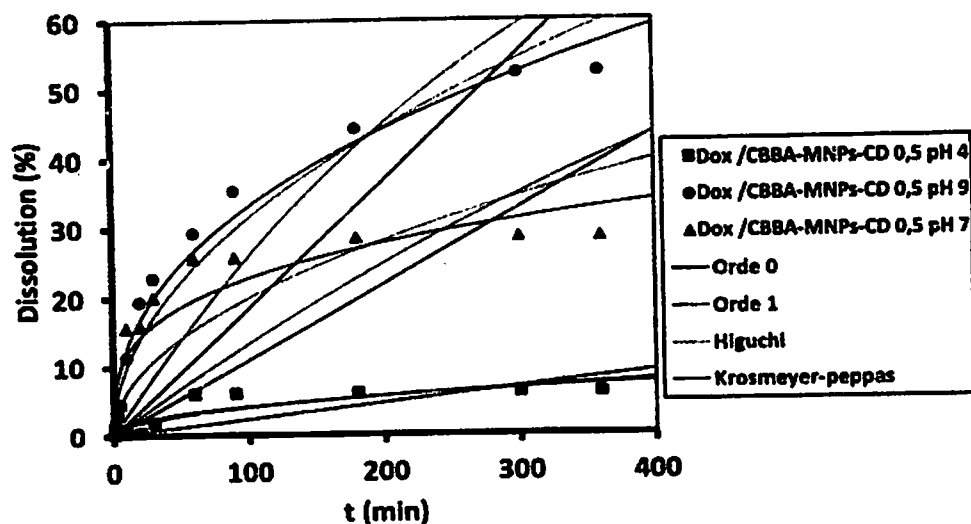


Gambar 11. Persentase disolusi Dox/CBBA-MNPs-CD pada variasi rasio Dox : Nanopartikel tertentu dibandingkan dengan model release nanopartikel.

nanopartikel hibrida dapat diketahui berdasarkan hasil uji disolusi. Data hasil uji disolusi yang diperoleh diterapkan pada persamaan model matematika orde nol, orde satu, Higuchi, Krosmeier-Peppas. Mekanisme pelepasan obat merupakan hal yang penting untuk diketahui dalam pengembangan obat. Dalam penelitian ini dilakukan

variasi dari rasio berat dari obat terhadap  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  serta variasi pH untuk mengetahui pengaruh terhadap model kinetika pelepasan obat.

Dari hasil uji disolusi, pada Gambar 11, Diketahui bahwa penambahan variasi CD pada MNPs mampu meningkatkan release dari Dox. Pada desain nanohibrida sendiri, peningkatan konsentrasi dari obat akan meningkatkan konsentrasi Dox yang direlease, dimana kesemua variasi memiliki pola yang sama dengan *burst release* dari Dox pada beberapa menit awal. Grafik pada Gambar 11 yang menunjukkan perbandingan plot antara hasil eksperimen dengan teoritis mengindikasikan kinetika pelepasan membran tersebut lebih mendekati pada model Krosmeier-peppas jika dibandingkan dengan model orde 0, orde 1, dan Higuchi. Model krosmeier-peppas menurunkan hubungan yang menggambarkan pelepasan obat dari sistem kompleks. Data yang diperoleh dari uji disolusi pelepasan obat diplotkan sebagai log persentase kumulatif pelepasan obat terhadap log waktu. Kinetika model Krosmeier-peppas juga bergantung pada besarnya nilai  $n$ , nilai  $n < 0,45$  maka pelepasan obat berdasarkan pada mekanisme difusi fickian. jika  $0,45 < n < 0,89$  pelepasan obat berdasarkan mekanisme non-fickian (anomali). Nilai  $n = 0,89$  mekanisme pelepasan obat mengikuti orde nol atau bisa disebut *case II transport* dan  $n > 0,89$  pelepasan obat disebut sebagai mekanisme *super case II transport*. Dalam hal ini dapat dijelaskan bahwa peristiwa *release* Dox terjadi secara *swelling* difusi matriks yang mana larutan medium mendifusi kedalam *nanofiber* dan terjepit dalam matriks yang menyebabkan pembengkakan (*swelling*) sehingga naproxen berdifusi dari dalam matriks *nanofiber* keluar akibat adanya perbedaan konsentrasi.



**Gambar 12.** Persentase disolusi Dox/CBBA-MNPs-CD pada variasi pH tertentu dibandingkan dengan model release nanopartikel.

Selain itu, dari Gambar 11, dapat diketahui bahwa semakin banyak penambahan magnetik nanopartikel  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  (MNP) menghasilkan nilai konstanta pelepasan obat ( $k$ ) yang semakin besar. Nilai  $k$  yang semakin besar, berarti laju pelepasan obat semakin meningkat. Gambar tersebut menunjukkan semakin banyak penambahan MNPs maka kecepatan *release* juga meningkat. Pada menit ke 90, Dox/CBBA-MNPs-CD pada rasio Dox terhadap nanohibrida, 0,5 : 1; 1 : 1; dan 1 : 0,5 secara berturut-turut memiliki persentase disolusi 35,5 %, 61,6 %, dan 72,7 %.

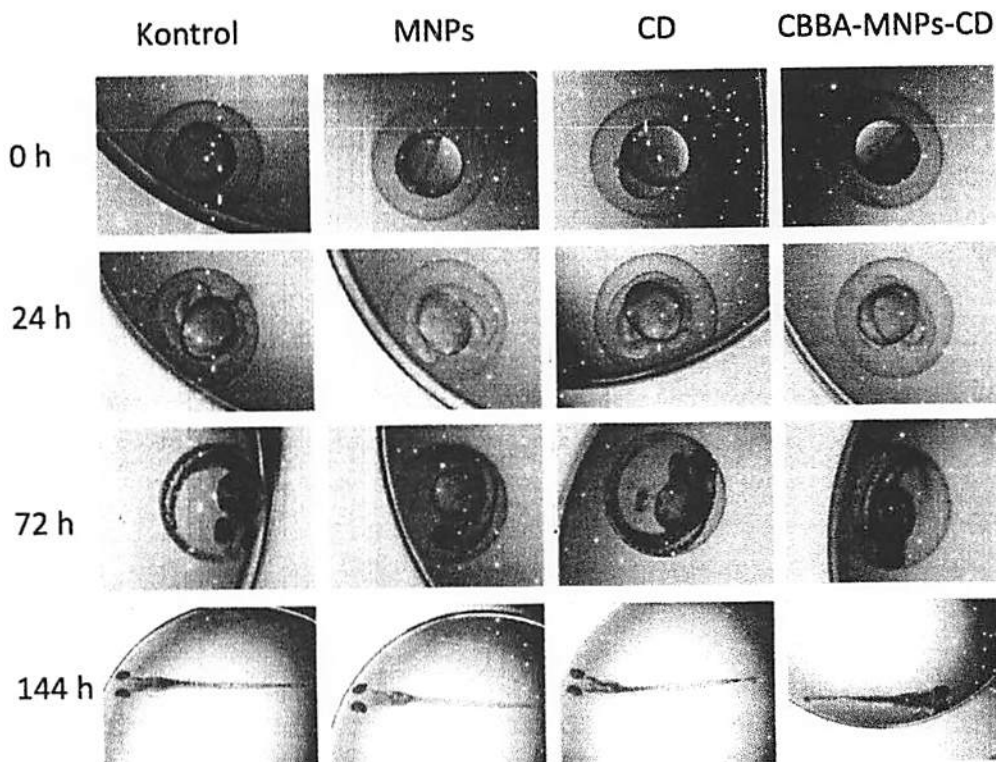
Selain mengetahui profil *release* naproxen terhadap pengaruh penambahan CD dan Dox, penelitian ini juga melakukan uji profil *release* akibat pengaruh pH. Dalam penelitian ini dilakukan menggunakan Dox/CBBA-MNPs-CD dengan rasio yang diuji *release* pada variasi pH 4, 7, dan 9.

Dari hasil uji disolusi menunjukkan bahwa model kinetika yang diikuti oleh membran Dox terhadap nanohibrida sama dengan 1 : 0,5 pada pH 4, 7, dan 9 secara keseluruhan mengikuti model kinetika Krosmeier-peppas. Hal ini berdasarkan besarnya nilai  $r^2$  uji *release* pada medium pH 4, 7, dan 9 secara berturut-turut adalah 0,79277 ; 0,97411 ; 0,86552. Pada Gambar 12 yang merupakan perbandingan plot hasil uji secara eksperimen dengan teoritis juga menunjukkan bahwa nanohibrida pada pH 4, 7, dan 9 secara keseluruhan memiliki kemiripan plot dengan model kinetika



Krosmeier-peppas secara teoritis. Secara keseluruhan memiliki nilai  $n < 0,45$  yang mengikuti mekanisme difusi fickian.

Perbedaan pH medium *release* memberikan pengaruh pada nilai  $k$  yang berdampak pada kecepatan *release* Dox. Medium dengan pH 9 memberikan nilai  $k$  tertinggi yaitu 6.05252 diikuti pH 7 dengan nilai 4.77776 dan yang paling rendah adalah pH 4 yaitu 0.58474. Sampai 10 menit pertama pada pH 9 telah *release* 15,7 % dan pH 7 adalah 11,4 %, sedangkan pada pH 4 hanya 0,38 %. Namun setelah 180 menit pertama persentase disolusi pada medium pH 9 mulai konstan sekitar 28,5 %. Secara keseluruhan dapat diamati pada Gambar 12 menunjukkan bahwa sampai 360 menit, membran yang diuji pada medium pH 7 memiliki persentase 52,5 %. Sedangkan pada pH 9 sebesar 28,6 % dan pH 4 hanya 6,1 %. Rendahnya persentase disolusi pada medium menggunakan pH 9 dan 4 dimungkinkan dikarenakan pH 9 dan



**Gambar 13.** Gambar perkembangan embrio ikan zebra setelah Di berikan treatment beberapa jenis nanopartikel dengan konsentrasi masing-masing 15  $\mu\text{g/mL}$ .

4 mempengaruhi difusi larutan medium memasuki *nanofiber* untuk melarutkan naproxen menjadi cukup lambat. Hal ini juga dapat menjelaskan bahwa Dox lebih terdispersi dalam medium basa.

### 5.1.9 Uji toksitas secara *in vivo* terhadap ikan zebra fish

Uji toksisitas secara *in vivo* ini dilakukan untuk mendukung data toksisitas secara *in vitro* dimana memberikan data yang lebih valid dalam pengaplikasian/hilirisasi nanopartikel tersebut pada penanggulangan kanker secara klinis. Pada pengujian ini digunakan ikan zebra sebagai hewan coba karena ikan ini memiliki presentase kemiripan DNA dengan manusia cukup besar, yakni 78%.

Gambar 13. Menunjukkan perkembangan embrio ikan zebra dari awal hingga 6 hari. Pada Gambar tersebut jelas terlihat bahwa pemberian beberapa jenis nanopartikel termasuk MNPS yang terlingkupi dengan HSA dan Nanopartikel hibrida tidak menyebabkan terhambatnya pertumbuhan embrio atau kematian. Lebih lanjut juga tidak ditemukan adanya cacat yang mengganggu perkembangan ikan. Hal ini dapat menunjukkan bahwa nanopartikel hibrida dan komponen-komponen pembentuknya tidak bersifat toksik dan sangat membuka kesempatan untuk dilakukannya uji *in vivo* lebih lanjut maupun uji klinis.

### 5.2. Luaran yang dicapai

Pada tahun ke 2 ini, secara umum luaran yang telah dicapai dalam penelitian ini, antara lain:

1. Sebagian hasil karbon dots disintesis dari selulosa, diantaranya selulosa dari daun bamboo. Penelitian ini telah di terima di RSC Advance dengan judul ***Bamboo Leaves Based Carbon Dots as an Efficient Tumor Imaging and Therapy.***
2. Desain nanohibrida dari MNPs dan CD juga dibentuk dalam bentuk draft dengan judul ***Synthesize Nanohybrid as magneto-fluorescence imaging agent for multimodal detection***

3. Buku yang telah masuk proses memasuki proses cetak di Airlangga University Press (AUP) Universitas Airlangga
4. Peneliti akan mengikuti konferensi ilmiah internasional The 12<sup>th</sup> Korea-ASEAN Joint Symposium 2018 pada 10-15 September 2018. Peneliti akan mempresentasikan makalah dengan judul "Cellulose-based Graphene Nanostructure for Comprehensive Treatment of Cancer Disease.
5. Proses sintesis dari karbon dots juga dibentuk dalam draft KI yang akan segera diusulkan ke Lembaga Pengembangan Bisnis Dan Inkubasi Universitas Airlangga sebagai draft paten.

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN



#### 7.1. Kesimpulan

Nanopartikel magnetik dan karbon dots telah berhasil disintesis dengan method solvotermal dan pirolisis, secara berturut-turut. Hasil uji PSA yang berfungsi untuk menentukan ukuran partikel rata-rata untuk  $MnFe_2O_4$  sebesar 342,6 nm, untuk  $CuFe_2O_4$  sebesar 83,26 nm. Nanopartikel karbon dots memiliki sifat fluoresensi, distribusi ukuran sebesar 2 nm, pada difraktogram muncul puncak pada  $2\theta$  sebesar  $17,5^\circ$ . Data toksisitas secara *invitro*, konfokal dan flowsitometri menunjukkan MNPs-CD tidak bersifat toksis dan berperan baik dalam pengantaran DOX. Hasil analisa kemagnetan dengan menggunakan uji VSM yang berfungsi untuk mengetahui nilai kemagnetan diketahui bahwa MNPs (hijau), MNPs-CD (biru), dan CBBA-MNPs-CD memiliki magnetisasi saturasi masing-masing sebesar 59,573 emu/g, 68,379 emu/g, 80,569 emu/g. Dari uji release Dox diketahui bahwa semakin besar rasio Dox akan meningkatkan release obat. Pola release Dox terhadap nanohibrida sendiri mengikuti kinetika Krosmeier-peppas dan sangat dipengaruhi oleh kondisi pH. Uji toksisitas secara *invivo* pada ikan zebra menunjukkan bahwa nanopartikel hibrida beserta komponen penyusunnya tidak memiliki sifat toksik.

#### 7.2. Saran

Perlu dilakukan optimisasi proses penelitian dan juga peningkatan fasilitas, agar penelitian ini dapat berjalan sesuai dengan apa yang akan direncanakan



## DAFTAR PUSTAKA

1. UNFPA, *Journal*, 2014, DOI: <http://www.unfpa.org>.
2. B. W. Stewart, C. P. Wild and editors, *Journal*, 2014.
3. Trihono, *Journal*, 2013.
4. C. Fang, F. M. Kievit, O. Veiseh, Z. R. Stephen, T. Wang, D. Lee, R. G. Ellenbogen and M. Zhang, *J. Controlled Release*, 2012, **162**, 233-241.
5. B. Godin, E. Tasciotti, X. Liu, R. E. Serda and M. Ferrari, *Acc. Chem. Res.*, 2011, **44**, 979-989.
6. J.-H. Lee, Y.-M. Huh, Y.-W. Jun, J.-W. Seo, J.-T. Jang, H.-T. Song, S. Kim, E.-J. Cho, H.-G. Yoon, J.-S. Suh and J. Cheon, *Nat. Med.*, 2006, **13**, 95-99.
7. H. M. Kim, H. Lee, K. S. Hong, M. Y. Cho, M.-H. Sung, H. Poo and Y. T. Lim, *ACS Nano*, 2011, **5**, 8230-8240.
8. H. Lee, S. M. Dellatore, W. M. Miller and P. B. Messersmith, *Science*, 2007, **318**, 426-430.
9. B. Qi, L. Ye, R. Stone, C. Dennis, T. M. Crawford and O. T. Mefford, *J. Phys. Chem. C*, 2013, **117**, 5429-5435.
10. S. Kim, B. Fisher, H.-J. Eisler and M. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 11466-11467.
11. U. Resch-Genger, M. Grabolle, S. Cavaliere-Jaricot, R. Nitschke and T. Nann, *Nat Meth*, 2008, **5**, 763-775.
12. X. Yang, D. Zhao, K. S. Leck, S. T. Tan, Y. X. Tang, J. Zhao, H. V. Demir and X. W. Sun, *Adv. Mater.*, 2012, **24**, 4180-4185.
13. P. Kocbek, N. Obermajer, M. Cegnar, J. Kos and J. Kristl, *J. Controlled Release*, 2007, **120**, 18-26.
14. Y. Lee, H. Lee, Y. B. Kim, J. Kim, T. Hyeon, H. Park, P. B. Messersmith and T. G. Park, *Adv. Mater.*, 2008, DOI: 10.1002/adma.200800756, NA-NA.
15. M. Prabaharan, J. J. Grailer, S. Pilla, D. A. Steeber and S. Gong, *Biomaterials*, 2009, **30**, 6065-6075.
16. L. Cao, X. Wang, M. J. Meziani, F. Lu, H. Wang, P. G. Luo, Y. Lin, B. A. Harruff, L. M. Veca, D. Murray, S.-Y. Xie and Y.-P. Sun, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 11318-11319.
17. H. Liu, T. Ye and C. Mao, *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, **46**, 6473-6475.
18. Y.-P. Sun, B. Zhou, Y. Lin, W. Wang, K. A. S. Fernando, P. Pathak, M. J. Meziani, B. A. Harruff, X. Wang, H. Wang, P. G. Luo, H. Yang, M. E. Kose, B. Chen, L. M. Veca and S.-Y. Xie, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 7756-7757.
19. R. Bhandari, D. B. Pacardo, N. M. Bedford, R. R. Naik and M. R. Knecht, *J. Phys. Chem. C*, 2013, **117**, 18053-18062.
20. X. Sun, Y. Zhang, P. Song, J. Pan, L. Zhuang, W. Xu and W. Xing, *ACS Catalysis*, 2013, **3**, 1726-1729.
21. T. Mokari, E. Rothenberg, I. Popov, R. Costi and U. Banin, *Science*, 2004, **304**, 1787-1790.
22. R. O'Hayre, M. Nanu, J. Schoonman, A. Goossens, Q. Wang and M. Grätzel, *Adv. Funct. Mater.*, 2006, **16**, 1566-1576.
23. R. Costi, A. E. Saunders, E. Elmalem, A. Salant and U. Banin, *Nano Lett.*, 2008, **8**, 637-641.
24. M. J. Hawkins, P. Soon-Shiong and N. Desai, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 2008, **60**, 876-885.

25. J.-H. Park, G. von Maltzahn, E. Ruoslahti, S. N. Bhatia and M. J. Sailor, *Angew. Chem.*, 2008, **120**, 7394-7398.
26. A. Scheffold, S. Miltenyi and A. Radbruch, *Immunotechnology*, 1995, **1**, 127-137.
27. A. Angelini, J. Morales-Sanfrutos, P. Diderich, S. Chen and C. Heinis, *J. Med. Chem.*, 2012, **55**, 10187-10197.
28. C. He, Y. Hu, L. Yin, C. Tang and C. Yin, *Biomaterials*, 2010, **31**, 3657-3666.
29. B. Zhang, X. Wang, F. Liu, Y. Cheng and D. Shi, *Langmuir*, 2012, **28**, 16605-16613.
30. P. Nigam, S. Waghmode, M. Louis, S. Wangnoo, P. Chavan and D. Sarkar, *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**, 3190-3195.
31. S. Huang, H. Qiu, S. Lu, F. Zhu and Q. Xiao, *J. Hazard. Mater.*, 2015, **285**, 18-26.
32. J.-H. Lee, K. Lee, S. H. Moon, Y. Lee, T. G. Park and J. Cheon, *Angew. Chem.*, 2009, **121**, 4238-4243.
33. P. Murawala, A. Tirmale, A. Shiras and B. L. V. Prasad, *Mater. Sci. Eng. C*, 2014, **34**, 158-167.
34. M. Z. Fahmi, K.-L. Ou, J.-K. Chen, M.-H. Ho, S.-H. Tzing and J.-Y. Chang, *RSC Advances*, 2014, **4**, 32762-32772.
35. S. N. Baker and G. A. Baker, *Angewandte Chemie International Edition*, 2010, **49**, 6726-6744.
36. S. Zhu, Y. Song, X. Zhao, J. Shao, J. Zhang and B. Yang, 2014.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Instrumen

Untuk penunjang penelitian ini di gunakan beberapa perangkat atau instrumen

Antara lain :

1. Spektro UV-Vis untuk mengetahui absorbansi nanopartikel, obat dan senyawa lain
2. PL spectro untuk mengukur tingkat emisi CD, Dox sebagai obat.
3. Analisa Dynamic light scattering untuk melihat ukuran nanopartikel sebagai koloid
4. Atomic Force Microscopy untuk melihat ukuran nanopartikel sebagai padatan.
5. Vibrating Sample Measurement untuk melihat tingkat magnetik material





## Lampiran 2. Personalia tenaga pelaksana beserta kualifikasinya.

No.	Nama/NIDN	Instansi Asal	Bidang Ilmu	Jabatan	Tugas
1.	Mochamad Zakki Fahmi/0002078307	Universitas Airlangga	Kimia Nanomaterial	Ketua	Penanggung jawab keseluruhan riset (Sintesis dan karakterisasi nanopartikel beserta pengujiannya)
2.	Yatim lailun Ni'mah/ 0024058402	Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya	Kimia Analitik	Anggota 1	Karakterisasi sebagian material, interpretasi dan pengolahan datanya
3.	Bambang Purwanto	Universitas Airlangga	Ilmu faal	Anggota 2	Peguajian secara <i>invitro</i> dan <i>invivo</i> , interpretasi hasil dan pengolahan datanya
4.	Rizkiyah Dewi	Universitas Airlangga	Teknik Kimia	Laboran	Membantu sintesis mnanopartikel
5.	Murrobiyatul Wathoniyah	Universitas Airlangga	Kimia	Mahasiswa S2	Membantu sintesis CD dari senyawa kimia sintesis
6.	Denika Liyan Nor Wibowo	Universitas Airlangga	Kimia	Mahasiswa S2	Membantu desain nanohibrida
7.	M. Haris Darmawan	Universitas Airlangga	Kimia	Mahasiswa S1	Membantu sintesis CD dari senyawa kimia biomolekul/biopolimer
8.	Nur Lailatul Machmudah	Universitas Airlangga	Kimia	Mahasiswa S1	Membantu desain nanohibrida

## Lampiran 3. Publikasi Paper 1 (accepted)

Email Airlangga University - Decision on submission to RSC Adv...

<https://mail.google.com/mail/u/0/?ik=a3968282c0&view=pt&scar...>

Mochamad Zakki &lt;m.zakki.fahmi@fst.unair.ac.id&gt;

**Decision on submission to RSC Advances - RA-ART-09-2018-007944.R1**

6 pesan

RSC Advances &lt;onbehalf@manuscriptcentral.com&gt;

27 Oktober 2018 04.08

Balas Ke: [advances@rsc.org](mailto:advances@rsc.org)

Kepada: m.zakki.fahmi@fst.unair.ac.id, zakki.fahmi@gmail.com

26-Oct-2018

Dear Mr Fahmi:

Manuscript ID: RA-ART-09-2018-007944.R1

TITLE: Bambuo Leaves Based Carbon Dots as an Efficient Tumor Imaging and Therapy

Thank you for submitting your revised manuscript to RSC Advances. After considering the changes you have made, I am pleased to accept your manuscript for publication in its current form.

You will shortly receive a separate email from us requesting you to submit a licence to publish for your article, so that we can proceed with publication of your manuscript.

RSC Advances is a gold open access journal. Your manuscript will be published open access and the article will be subject to the appropriate article processing charge (APC). Discounted APCs and full APC waivers for corresponding authors in certain countries are available. All authors can apply for an ad hoc APC waiver - please see the following URL for more details: <http://www.rsc.org/journals-books-databases/about-journals/rsc-advances>

Please note that RSC Advances no longer publishes 'Just Accepted' manuscripts; the time between acceptance and final publication is typically less than 10 days and therefore we no longer feel this provides a significant benefit to our authors. Instead, articles are published following editing and proofing and once the final, paginated PDF is ready for publication.

We will email you information on how to access your RSC Advances article proofs shortly.

As an author you are entitled to a 25% discount on books published by the Royal Society of Chemistry. To receive this discount, enter the promotional code JLTH25 when purchasing from our online bookshop ([pubs.rsc.org/bookshop](http://pubs.rsc.org/bookshop)). Please contact [booksales@rsc.org](mailto:booksales@rsc.org) if you have any problems.

Discover more Royal Society of Chemistry author services and benefits here:

<http://www.rsc.org/journals-books-databases/about-journals/benefits-of-publishing-with-us/>

Thank you for publishing with RSC Advances, a journal published by the Royal Society of Chemistry – the world's leading chemistry community, advancing excellence in the chemical sciences.

With best wishes,

Professor Suprakas Sinha Ray  
Associate Editor, RSC Advances

.....

If you need to contact the journal, please use the email address [advances@rsc.org](mailto:advances@rsc.org)

.....

## Lampiran 4. Publikasi Paper 2 (draft)

Journal Name

## Synthesize Nanohybrid as magneto-fluorescence imaging agent for multimodal detection

Received 00th January 20xx,  
Accepted 00th January 20xx

Nurfaillatul Machmudah,<sup>a</sup> Satya Candra Wibawa Sakti,<sup>a</sup> Yatim Iaiun Nikmah,<sup>b</sup> Bambang Purwanto,<sup>c</sup> and Mochamad Zakki Fahmi,<sup>\*\*</sup>

DOI: 10.1039/x0xx00000x

www.rsc.org/

Magnetic nanoparticles (MNPs) based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Citric acid carbon dots (CDs) offers excellent potential for the development of new imaging techniques strategies. In this study, we design nanohybrid which combine superparamagnetic property of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and photoluminescence property of CDs in a single nanoparticle. This Nanohybrid is very promising to be applied for multimodal bioimaging including magnetic resonance imaging (MRI) and X-ray computed tomography (CT). Nanohybrid (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Citric acid CDs) was carried out by coprecipitation from Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup> under alkaline solution continued with coating and pyrolysis by citric acid. The product is characterized by FTIR, XRD, DLS, VSM, UV VIS and PL spectrometer analysis.

### Introduction

Over the past decades, nano-sized inorganic particles, including MNPs (magnetic nanoparticles) and CDs (Carbon dots), has been extensively studied because of their unique optical, electrical and magnetic properties.<sup>1</sup> Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> based on MNPs had, become great interest due to their physical properties such as biocompatible, biodegradable, and most importantly superparamagnetic property which can distort the local magnetic characteristics of the tissue in order to yield an enhancement in image contrast.<sup>1-9</sup> Due to its superior properties, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> has attracted much interest not only in the field of magnetic storage but also in biomedical areas, including biosensor, hyperthermia therapy, drug delivery, medical imaging, clinical diagnosis, cardiovascular therapy, and magnetic separation.<sup>1,5-10</sup>

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs has been approved for its clinical use as a magnetic resonance contrast agent through MRI.<sup>8,9</sup> A major issue in some MRI contrast agent is the high risk of its toxicity due to their long-term residence in body without degradation. Meanwhile, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs can be considered as a better alternative because of 2 reasons, first reason is iron ion requirements in the human body is about 20-25 mg similar to the amount of contrast agent injection per person (0.5 mg/kg). The other reason is biodegraded iron can enter the body and participate homeostasis balance.<sup>7</sup>

The Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs have been synthesized by the various

methods such as hydrothermal, solothermal, electrochemical, co-precipitation, microemulsion, sol-gel, sonochemistry, and thermal decomposition.<sup>1-3,8-11</sup> Among these methods, co-precipitation method can be considered the best route in terms of short preparation time, low costs of precursors, and processing at low temperature.<sup>1,4</sup> However, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNPs in colloidal form tend to agglomerate in water because of the strong magnetic dipole-dipole attractions between the crystals and the large surface energy.<sup>2,10</sup> Surface modification is needed to enhance its colloidal stability in the water, which also crucially influences its biodistribution and blood circulation in human body.<sup>7</sup> From the previous research, to improve the stability of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, its surface can be modified or coated using carboxylate, sulfonates, gold, phosphates, silicon compounds, polymers and carbon dot which can be advantageous in reducing its hydrodynamic size.<sup>2,11,12</sup> Carboxylate of citric acid which binding to the surface of MNPs have been widely used as stabilizing agent because they can change its negatively and increasing its hydrophilicity.<sup>4,11,13</sup>

Beside MNPs, Carbon dots (CDs) has also attracted much attention as a promising material for numerous application including photo-catalyst, optical detection, light emitting diodes, drug delivery, bioimaging, biolabeling, biosensing and optoelectronic devices due to its photoluminescence property.<sup>14-18</sup> The presence of heavy metals and toxicity on semiconductor nanocrystal have limited the potential of its biomedical application as a biological labelling and imaging.<sup>17</sup> CDs considered as a better alternative as a bioimaging in term of its low toxicity, high photostability, good biocompatibility, aqueous solubility, easily functionalization, small hydrodynamic diameter, low nonspecific protein adsorption and rapid extraction from the body with sufficient delivery to the targeted (usually cancer) tissue.<sup>2,14-19</sup> Luminescence CDs also offer long term cell tracking / deep

<sup>a</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Technology, Airlangga University  
<sup>b</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Technology, Airlangga University  
<sup>c</sup> Chemistry Department, Faculty of Sciences and Technology, Airlangga University  
Electronic Supplementary Information (ESI) available: [details of any supplementary information available should be included here]. See DOI: 10.1039/x0xx00000x

Lampiran 5. Buku Ajar dengan Judul Nanoteknologi dalam Prespektif Kesehatan (Proses Cetak ke Airlangga University Press (AUP))



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
PUSAT INOVASI PEMBELAJARAN DAN SERTIFIKASI (PIPS)  
Kampus C UNAIR : Gedung Kahuripan Lt.2 Ruang 203. Jl. Mulyorejo Surabaya  
Telp. (031) 5920424, Fax. (031) 5920532  
Website: [www.pips.unair.ac.id](http://www.pips.unair.ac.id) e-mail: [adm@pips.unair.ac.id](mailto:adm@pips.unair.ac.id)

Nomor : 758/UN3.17/PB/2018  
Lampiran : Satu berkas  
Hal : Usulan cetak buku ajar

8 November 2018

Kepada Yth.  
Ketua Airlangga University Press (AUP)  
Aribowo, Drs., M.S.  
Universitas Airlangga

Bersama ini kami kirimkan draft buku ajar dengan judul "Nanoteknologi Dalam Prespektif Kesehatan" oleh Mochamad Zakki Fahmi, S.Si., M.Si., Ph.D. Draft buku tersebut telah selesai diperbaiki oleh penulis. Dan hasil penilaian draft buku tersebut setelah menggunakan aplikasi plagiasi TURNITIN menghasilkan indeks kemiripan sebesar 15% (*file soft copy* terlampir). Selanjutnya mohon draft buku tersebut dapat diproses untuk dicetak, untuk perbaikan redaksional mohon langsung menghubungi penulis.

Perlu kami informasikan bahwa pencetakan bahan teks tertuang dalam RKAT PIPS tahun 2018, dengan biaya setiap judul sebesar Rp. 4.000.000,- (empat juta rupiah).

Atas perhatian dan kerjasamanya disampaikan terima kasih.

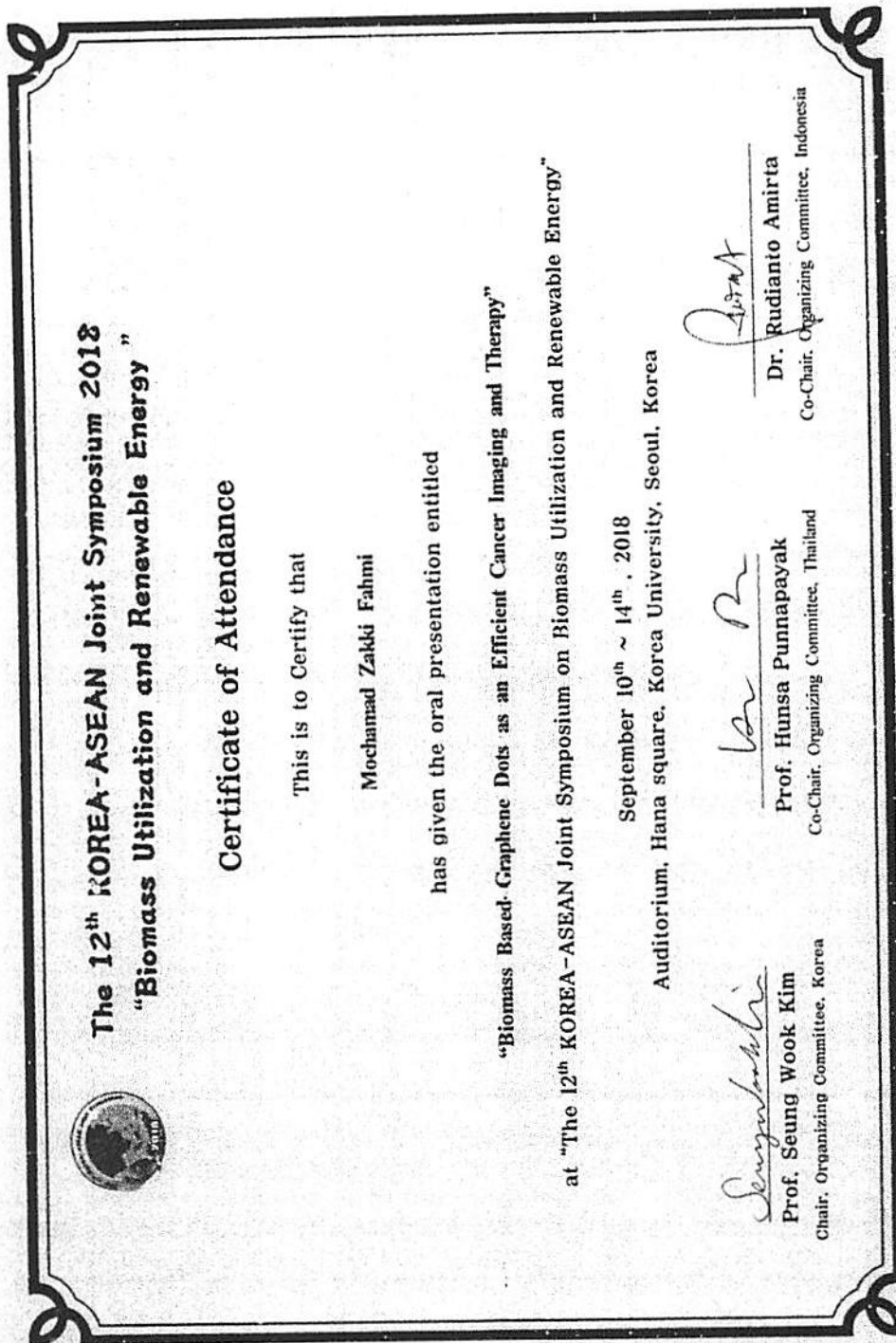


Ketua  
Sari Amalia, S.S., M.A., Ph.D.  
NIP. 19740612 200501 2 002

Tembusan Kepada Yth.:

1. Rektor
2. Wakil Rektor I
3. Wakil Rektor III
4. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
5. Mochamad Zakki Fahmi, S.Si., M.Si., Ph.D.

Lampiran 6. Publikasi dalam bentuk presentasi oral pada The 12<sup>th</sup> Korea-ASEAN Joint Symposium



## Lampiran 7 Draft HKI dalam bentuk draft paten sederhana

1

DeskripsiDesain Sederhana Sistem Pirolisis untuk Sintesis Graphene  
Oksida Nanodots5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan teknik pirolisis untuk sintesis Graphene Oksida maupun Graphene Oksida Nanodots sebagai material maju yang untuk selanjutnya bisa diaplikasikan pada bidang medis dan system pengolahan  
10 limbah.

Latar Belakang Invensi

Bahan resin akrilik polimetil metakrilat (PMMA) di bidang ilmu gigitiruan, sampai saat ini masih banyak  
15 digunakan sebagai basis gigi tiruan, meskipun sekarang banyak didapatkan bahan basis gigi tiruan dari metal atau metal frame denture. Hal ini disebabkan harganya relatif murah, manipulasi serta cara pembuatannya yang relatif mudah, warnanya menyerupai gingiva, sifat tidak toksis,  
20 tidak larut dalam ludah, dapat dilakukan reparasi dan perubahan dimensinya kecil.

Menurut Edgerton dan Michael, 1993 dalam Parnaadi dan Soeprapto tahun 2001 dalam jurnal Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) Vol.34 no. 34 Surabaya: FKG UNAIR bahwa  
25 gigi tiruan di dalam rongga mulut selalu berkontak dengan saliva, selanjutnya gigi tiruan resin akrilik ini akan mengabsorpsi protein saliva secara selektif acquired denture pelicle (ADP). Segera setelah ADP terbentuk, mikroorganisme akan melekat pada reseptor protein saliva  
30 dalam membentuk koloni. Pengumpulan mikroorganisme yang