

TESIS

**EFEKTIFITAS NANOPARTIKEL MAGNETIK ($MnFe_2O_4$) BERLAPIS
HUMAN SERUM ALBUMIN (HSA) TERTARGET RESEPTOR FOLAT
SEBAGAI MEDIA *DELIVERY SYSTEM* TERHADAP SEL KANKER
TIKUS STRAIN WISTAR**



KKB
KK
TI.01/17
llh
e

FASIH BINTANG ILHAMI
091425053001

SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2016

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terimakasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Andi Hamim Zaidan., M.Si Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran sehingga terselesaikannya tesis ini.

Terimakasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Bambang Purwanto., dr.,M.Kes, Pembimbing yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, dan saran.

Dengan terselesaikannya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga (Prof. Dr.Moh. Nasih, SE.,MT.,Ak.,CMA) atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh (Prof. Dr. Hj. Sri Iswati, SE.,M.Si.,Ak) atas kesempatan untuk menjadi Mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
3. Dekan Fakultas Tekhnobiomedik Universitas Airlangga yang dijabat oleh (Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si) atas kesempatan yang diberikan pada saya untuk mengikuti pendidikan Program Magister.

4. Kedua orangtua tercinta (Ir. Muhammad Rasyid., M.Si dan Suharlina) yang telah senantiasa mendoakan serta memotivasi sehingga terselesaikannya tesis ini.
5. Kakak tercinta (dr. Hepy Herliniati & dr. Adhari Ajipurnomo, M. Fauzan Jaka Permana., S.P & Nawiyah) yang telah memberi dukungan serta masukan dalam terselesaikannya tesis ini.
6. Keluarga besar yang juga telah memberi dukungan serta motivasi dalam terselesaikannya tesis ini.
7. Tersayang Nimas Anggraini, teman yang selalu memotivasi dan membantu sehingga tesis ini dapat terselesaikan tepat waktu.
8. Rekan-rekan magister teknobiomedik universitas Airlangga yang juga memberikan berbagai masukan dan motivasi.

SUMMARY

Cancer is a disease characterized by the abnormal growth of body tissue cells where in its development, the cancer can spread the death. In the world of biomedicine, Magnetic Nanoparticles (MNPs) is one of the diagnostic that can be used as a drug delivery system, Magnetic Resonance Imaging (MRI), hyperthermia therapy, and tracking cells *in vivo*. Thus, in this study, carried out the development of MNPs as a media for drug delivery by utilizing the different characteristics of the cancer cells and healthy cells using materials MnFe_2O_4 coated Human Serum Albumin (HSA) targeted folic receptor were injected intravenously through the tail with the aim to see the distribution of MnFe_2O_4 towards strain wistar rats that have induced cancer *in vivo*.

To find out the results of the study, conducted the analysis using Dynamic Absorption Scattering (DLS) and the results MnFe_2O_4 coated Human Serum Albumin (HSA) has a particle size with average of 184.5 nm, as well as analysis voltammetry to test the effectiveness of MnFe_2O_4 as media delivery system of cancer cell using a standard equation $Y = A + Bx$ with numbers equation $Y = -1.5906 + 1,6156X$.

Based on equation results and SPSS test, the mean concentration obtained in the intervention group is 0.0038 and control group amounted 0.0024 compared to stem concentration of 0,0070ppm/1cc MnFe_2O_4 . This shows that the MnFe_2O_4 coated Human Serum Albumin (HSA) targeted folic receptor is effective as media delivery system against cancer cells because that found >50% MnFe_2O_4 in cancer cells. While based Independent T-Test test obtained by value $p=0,013<0,05$ so there is a difference between the control group and the intervention as a delivery system against cancer cells occur due to folic acid as a targeted agent that will move towards folate receptors on cancer cells.

The further development of magnetic nanoparticles (MNPs) in the medical world can still be done in several aspects, one of which is by measuring the extent to which the ability of the delivery system is able to penetrate the layer of cancer cells that can be demonstrated microscopically so that MNPs can become one ingredient that is ideal to be used as delivery media for cancer drugs.

ABSTRACT

Cancer is a disease characterized by the abnormal growth of body tissue cells where in its development, the cancer can spread the death. Thus, in this study, carried out the development of MNPs as drug delivery using nanomaterials to see the effectivity of MnFe_2O_4 coated Human Serum Albumin (HSA) targeted folat receptor as media delivery system in cancer cells.

This research is a true-experiment with post test only control group design. The instrument used was DLS (Dynamic Light Scattering), voltammetry and ultraviolet (UV). Where to see the difference between groups was performed using independent T-test with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$).

The result of DLS showed that MnFe_2O_4 coated HSA has a particle size with average of 184.5 nm. Voltametri analysis shows that the HSA-MF-FA NPs is effective as media delivery system against cancer cells because that found $>50\%$ MnFe_2O_4 in cancer cells. While based Independent T-Test test obtained by value $p=0.013 < \alpha=0.05$ so there is a difference between the control group and the intervention as a delivery system against cancer cells.

MNPS development still further can be done in several aspects, one of them with a measure the extent of the delivery system ability to penetrate the layer of cancer cells that MNPS can be one material that is ideal to be used as media drugs delivery.

Keywords: MnFe_2O_4 coated Human Serum Albumin (HSA) targeted folic receptor, delivery system, cancer cells



DAFTAR ISI

| | Halaman |
|-----------------------------------------|---------|
| Halaman Sampul Depan | |
| Halaman Sampul Dalam | ii |
| Halaman Prasyarat Gelar | iii |
| Halaman Persetujuan | iv |
| Halaman Penetapan Panitia Penguji | v |
| Pernyataan Tentang Orisinalitas | vi |
| Halaman Ucapan Terimakasih..... | vii |
| Summary | ix |
| Abstract..... | x |
| DAFTAR ISI..... | xi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xv |
| DAFTAR TABEL..... | xvii |
| DAFTAR SINGKATAN | xviii |
| BAB 1 PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang Masalah | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 5 |
| 1.3 Batasan Masalah | 5 |
| 1.4 Tujuan | 5 |
| 1.4.1 Tujuan umum..... | 5 |
| 1.4.2 Tujuan khusus..... | 5 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 6 |
| 1.5.1 Manfaat teoritis..... | 6 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.5.2 Manfaat praktis | 6 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| 2.1 Nanopartikel Magnetik | 7 |
| 2.1.1 Definisi..... | 7 |
| 2.1.2 Sifat nano partikel magnetik..... | 8 |
| 2.1.3 Sintesis nano partikel magnetik | 10 |
| 2.1.4 Nanopartikel magnetik ($MnFe_2O_4$)..... | 12 |
| 2.2 Human Serum Albumin (HSA) | 13 |
| 2.2.1 Struktur human serum albumin (HSA)..... | 13 |
| 2.3 Konsep Dasar Asam Folat | 15 |
| 2.3.1 Folat dan reseptor folat | 15 |
| 2.3.2 Selektifitas tumor terhadap folat..... | 17 |
| 2.4 Konsep Kanker | 18 |
| 2.4.1 Pengertian kanker | 18 |
| 2.4.2 Penyebab kanker..... | 21 |
| 2.4.3 Proliferasi sel | 27 |
| 2.4.4 Vaskularisasi tumor | 28 |
| 2.4.5 Dasar molekuler kanker (Karsinogenesis)..... | 29 |
| 2.5 Voltametri..... | 34 |
| 2.5.1 Teknik voltametri..... | 36 |
| 2.6 Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis <i>Human Serum Albumin</i> (HSA) Tertarget Reseptor Folat Sebagai <i>Delivery System</i> | 39 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEPTUALDANHIPOTESIS PENELITIAN..... | 41 |
| 3.1 Kerangka Konseptual..... | 41 |

| | |
|-------------------------------------------------|-----------|
| 3.2 Hipotesis Penelitian | 43 |
| BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN | 44 |
| 4.1 Desain Penelitian | 44 |
| 4.2 Populasi dan Sampel..... | 45 |
| 4.2.1 Besar sampel..... | 45 |
| 4.2.2 Kriteria sampel..... | 46 |
| 4.3 Variabel Penelitian..... | 47 |
| 4.3.1 Variabel independen | 47 |
| 4.3.2 Variabel dependen | 47 |
| 4.3.3 Variabel kendali..... | 47 |
| 4.3.4 Definisi operasional | 48 |
| 4.4 Bahan dan Alat Penelitian..... | 48 |
| 4.4.1 Bahan penelitian | 48 |
| 4.4.2 Alat penelitian..... | 48 |
| 4.5 Instrumen Penelitian | 48 |
| 4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 49 |
| 4.7 Prosedur dan Pengumpulan Data..... | 49 |
| 4.7.1 Tahap persiapan | 49 |
| 4.7.2 Tahap aklimatisasi | 49 |
| 4.7.3 Tahap pelaksanaan..... | 49 |
| 4.7.4 Tahap pengumpulan data | 51 |
| 4.8 Pengolahan dan Analisis Data | 52 |
| 4.8.1 Analisis data..... | 52 |
| 4.9 Kerangka Kerja..... | 53 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN | 54 |
| 5.1 Data Penelitian..... | 54 |
| 5.1.1 Hasil karakterisasi Dynamic Light Scattering (DLS)..... | 54 |
| 5.1.2 Analisis voltametri | 56 |
| 5.2 Analisis dan Hasil Penelitian | 62 |
| 5.2.1 Hasil Uji SPSS..... | 62 |
| BAB 6 PEMBAHASAN..... | 64 |
| 6.1 Distribusi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis <i>Human Serum</i> <i>Albumin (HSA)</i> Tertarget Reseptor Folat Terhadap Sel Kanker Tikus <i>Strain Wistar</i> | 64 |
| 6.2 Distribusi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis <i>Human Serum</i> <i>Albumin (HSA)</i> Non-target Reseptor Folat Terhadap Sel Kanker Tikus <i>Strain Wistar</i> | 66 |
| 6.3 Perbedaan Distribusi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis <i>Human</i> <i>Serum Albumin (HSA)</i> Non-target Reseptor Folat Terhadap Sel Kanker Tikus <i>Strain Wistar</i> | 68 |
| 6.4 Keterbatasan Penelitian..... | 69 |
| BAB 7 PENUTUP | 70 |
| 7.1 Kesimpulan | 70 |
| 7.2 Saran | 70 |
| DAFTAR PUSTAKA | 72 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1 Pengembangan Nanopartikel Magnetik | 8 |
| Gambar 2.2 Ukuran <i>Independent Magnetic Nanoparticle Iron Oxide</i> Menggunakan TEM | 10 |
| Gambar 2.3 Sintesis Nanopartikel Magnetik | 11 |
| Gambar 2.4 Hasil pencitraan TEM nanopartikel $MnFe_2O_4$ | 13 |
| Gambar 2.5 Struktur <i>Human Serum Albumin</i> | 14 |
| Gambar 2.6 Struktur Molekul Asam Folat | 16 |
| Gambar 2.7 Proses Kerja Asam Folat | 16 |
| Gambar 2.8 Proses Endositosis Asam Folat dan Reseptor Folat | 17 |
| Gambar 2.9 Ikatan kovaen B(a)P-7,8-diol-9,10 <i>oxide</i> dengan DNA | 27 |
| Gambar 2.10 Sistem Vaskularisasi Sel Normal dan Sel Tumor | 29 |
| Gambar 2.11 <i>Low Chart Depicting a Simplified Scheme of The Molecular Basis of Cancer</i> | 33 |
| Gambar 2.12 Lapis rangkap listrik | 34 |
| Gambar 2.13 Diagram sel voltametri | 36 |
| Gambar 2.14 Potensial signal eksitasi dan voltomogram untuk teknik voltametri lucutan anodik | 38 |
| Gambar 3.1 Kerangka Konseptual | 41 |
| Gambar 4.1 Rancangan Penelitian | 44 |
| Gambar 4.2 Kerangka Kerja | 53 |
| Gambar 5.1 Hasil Karakterisasi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) menggunakan <i>Dynamic Light Scattering (DLS)</i> | 54 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 5.2 Hasil Karakterisasi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis <i>Human Serum Albumin (HSA)</i> menggunakan <i>Dynamic Light Scattering (DLS)</i> | 55 |
| Gambar 5.3 Kurva Kalibrasi larutan $MnFe_2O_4$. yang diukur menggunakan voltametri | 58 |
| Gambar 5.4 Grafik Standar Mn pada konsentrasi 1ppm, 2ppm, 4ppm, dan 8ppm..... | 59 |
| Gambar 5.5 Distribusi $MnFe_2O_4$ pada kelompok yang diberi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis <i>Human Serum Albumin (HSA)</i> tertarget reseptor folat | 60 |
| Gambar 5.6 Distribusi $MnFe_2O_4$ pada kelompok yang diberi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis <i>Human Serum Albumin (HSA)</i> non-target reseptor folat | 61 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 4.1 Definisi Operasional | 48 |
| Tabel 5.1 Hasil Analisis Uji <i>Independent T-Test</i> | 62 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|----------------------------------|-----------------------------------------------|
| IARC | : International Agency for Research on Cancer |
| UV | : ultraviolet |
| MNPs | : Magnetic Nanoparticle |
| MRI | : Magnetic Resonance Imaging |
| PEG | : polyethylene glycol |
| PLGA | : lactic-co-glycolic acid |
| EGFR | : epidermal growth factor receptor |
| GH | : Growth Hormone |
| HSA | : human serum albumin |
| MnFe ₂ O ₄ | : manganese ferrit |
| SPION | : Superparamagnetic nanopartikel besi oksida |
| TEM | : Transmission Electron Microscopy |
| Fe | : ferrum/besi |
| Co | : cobalt |
| NiFe ₂ O ₄ | : Nickel Ferrite |
| Fe ₃ O ₄ | : Iron Oxide Nanoparticle |
| FR | : Folat Reseptor |
| DNA | : <i>Deoxyribonucleid Acid</i> |
| MMPs | : <i>matrix metalloproteinase</i> |
| PAH | : <i>polycyclic aromatic hydrocarbon</i> |
| (B9(a)P) | : <i>Benzopyrene</i> |
| MFO | : <i>Mixed Function Oxidase</i> |
| DDS | : Drug Delivery System |

- BSA : Bovine Serum Albumin
DTPA : *Dietilenatriamina asam pentaacetic*
DLS : *Dynamic Light Scattering*
HSA : Human Serum Albumin

BAB 1

PENDAHULUAN



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan tidak normal dari sel-jaringan tubuh. Dimana dalam perkembangannya, sel-sel kanker ini dapat menyebar kebagian tubuh lain sehingga dapat menyebabkan kematian (Torre *et al.*, 2015). Hingga saat ini, kasus kanker menjadi semakin tinggi dan banyak dialami masyarakat dunia baik di negara maju maupun negara berkembang.

Kanker termasuk ke dalam salah satu masalah kesehatan masyarakat terbesar pada berbagai negara di dunia. Pada tahun 2012 kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang. Berdasarkan Data GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, diketahui bahwa pada tahun 2012 terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker di seluruh dunia. Kanker payudara, kanker prostat, dan kanker paru merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru (setelah dikontrol dengan umur) tertinggi, yaitu sebesar 43,3%, 30,7%, dan 23,1%. Sementara itu, jenis kanker paru dan kanker payudara merupakan penyebab kematian (setelah dikontrol dengan umur) tertinggi (Kementrian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan, 2015).

Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 melaporkan secara nasional prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur di Indonesia adalah sebesar 1,4% atau diperkirakan sekitar 347.792 orang, Provinsi Jawa Tengah dan Provinsi Jawa Timur merupakan provinsi dengan estimasi

penderita kanker terbanyak, yaitu sekitar 68.638 dan 61.230 orang. Dengan kanker serviks dan kanker payudara sebagai penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia, yaitu sebesar 0,8% dan 0,5%. Penyakit kanker dapat menyerang semua umur, hampir semua kelompok umur penduduk memiliki prevalensi penyakit kanker yang cukup tinggi. Prevalensi penyakit kanker tertinggi berada pada kelompok umur 75 tahun ke atas, yaitu sebesar 5,0% dan prevalensi terendah pada anak kelompok umur 1-4 tahun dan 5-14 tahun sebesar 0,1% (Pusdatin, 2014).

Terdapat beberapa faktor risiko kanker yaitu karsinogen fisik (seperti sinar *ultraviolet* (UV) dan radiasi ion), karsinogen kimiawi (seperti *benzo(a)pyrene*, *formalin* dan *aflatoksin* (kontaminan makanan)), karsinogen biologis (seperti infeksi virus, bakteri dan parasit), serta faktor perilaku dan pola makan (meliputi indeks massa tubuh tinggi, kurang konsumsi buah dan sayur, kurang aktivitas fisik, penggunaan rokok, dan konsumsi alkohol berlebihan) (Torre *et al.*, 2015). Bila terdeteksi lebih dini, kanker merupakan jenis penyakit yang dapat disembuhkan dengan beberapa penatalaksanaan seperti operasi pengangkatan sel kanker, radioterapi, dan kemoterapi (Torre *et al.*, 2015). Terapi kemoterapi merupakan salah satu terapi yang paling banyak digunakan karena tidak bersifat invasif dan dinilai cukup efektif untuk membunuh sel kanker. Akan tetapi, terdapat beberapa efek samping dari pemakaian terapi tersebut terhadap sel sehat yang ada di sekitar sel kanker, salah satunya bahwa pemberian obat kemoterapi ke dalam tubuh tidak hanya dapat menghancurkan sel kanker tapi juga merusak sel sehat sekitar sehingga hal ini mendorong agar pengobatan kemoterapi kanker terus dikembangkan,

salah satunya melalui pengembangan sistem penghantaran obat (*drug delivery system*) yang lebih aman dan tepat sasaran.

Nanopartikel Magnetik (MNPs) merupakan salah satu *theranostic* (terapi dan diagnostik) dalam dunia biomedis yang dapat dijadikan sebagai media penghantar obat (*drug delivery*), pencitraan resonansi magnetik (MRI), terapi hipertermia, dan pelacakan *in vivo* dari sel karena metode tersebut memiliki biokompatibilitas yang tinggi, dan tingkat toksisitas yang rendah sebagai bahan medis yang akan dimasukkan ke dalam tubuh (Ling, Lee, & Hyeon, 2015). Dengan beberapa keuntungan tersebut, penggunaan MNPs sangat mungkin untuk dikembangkan dalam berbagai penelitian salah satunya sebagai media penghantar obat (*drug delivery*).

Sebagai salah satu prinsip *delivery system* yaitu tepat sasaran, maka pengembangan MNPs perlu dilakukan dengan menggunakan *targeted agent* agar membantu proses endositosis pada sel kanker. Beberapa penggunaan agen penarget seperti *polyethylene glycol (PEG)*, *lactic-co-glycolic acid (PLGA)*, *human epidermal growth factor receptor (EGFR)*, silika, dan hormon *somatostatin/ pertumbuhan (GH)* banyak dikembangkan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Veronese & Pasut, 2005) diketahui bahwa PEG merupakan salah satu agen penarget kanker yang baik karena dapat mengurangi toksisitas obat kemoterapi terhadap sel kanker, akan tetapi PEG hanya dapat di eksresikan melalui urin dan feses sedangkan sebagian molekul dari PEG juga terakumulasi pada organ hati sehingga hal ini dapat berdampak terhadap terjadinya makromolekular sindrom. Selain itu, PEG merupakan salah satu bahan polimer yang menjadikan bahan tersebut kurang spesifik

sebagai media *delivery system* karena bahan ini hanya akan menghasilkan molekul dalam ukuran mikro.

Penelitian lain yang dilakukan oleh (Nguyen, 2011) menyatakan bahwa PLGA juga memiliki tingkat toksisitas yang rendah sebagai media penghantar obat, namun memiliki sifat *biodegradable* yang cepat di dalam sirkulasi sehingga tidak dapat bertahan lama di dalam jaringan tubuh sebagai media *delivery system*, begitu pula dengan bahan silikon/silika yang masih belum banyak dilakukan penelitian mengenai tingkat toksisitas bahan tersebut sehingga penggunaannya sangat berpotensi terhadap resiko masalah kesehatan. Kanker merupakan salah satu sel yang memiliki reseptor folat sebagai sumber pemenuhan nutrisi, sehingga semakin cepat pembelahan sel terjadi maka akan diikuti dengan peningkatan kebutuhan nutrisi dalam sel sehingga reseptor folat juga akan semakin banyak. Hal ini sesuai dengan jurnal *review* yang dilakukan oleh (Zwicke, Mansoori, & Jeffery, 2012) diperoleh hasil bahwa asam folat telah secara ekstensif dieksplorasi sebagai target untuk pengobatan kanker dibandingkan dengan *targeted agent* lainnya karena selain mengurangi tingkat toksisitas dan *biodegradable* yang panjang, asam folat juga memiliki spesifisitas yang tinggi terhadap sel kanker.

Berdasarkan uraian tersebut, maka pengembangan sistem penghantaran obat (*delivery system*) dalam pengobatan kemoterapi yang dibentuk menjadi ukuran nano sangat mungkin dilakukan dengan memanfaatkan perbedaan karakteristik sel kanker dan sel sehat melalui dua hal yaitu keadaan kebocoran vaskularisasi serta tingkat keasaman di lingkungan sel kanker dan proses pertumbuhan sel kanker yang tidak terkontrol (Zwicke *et al.*, 2012). Oleh

karena itu, penelitian menggunakan bahan material medis berupa MnFe_2O_4 sebagai inti (*core*) dan dilapisi dengan protein *human serum albumin (HSA)*, serta menggunakan *targetted agent* berupa asam folat perlu dikembangkan agar pemberian pengobatan menjadi lebih tepat sasaran.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka perumusan masalah dalam proposal ini adalah : Apakah Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat memiliki efektivitas yang baik sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah Nanopartikel Magnetik dengan jenis MnFe_2O_4 yang dilapisi dengan *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker model hewan coba tikus galur *strain wistar*.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan umum

Menganalisis efektivitas Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

1.4.2 Tujuan khusus

1. Mengetahui konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

2. Mengetahui konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.
3. Mengidentifikasi perbedaan konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget dan non-target reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

1.5 Manfaat

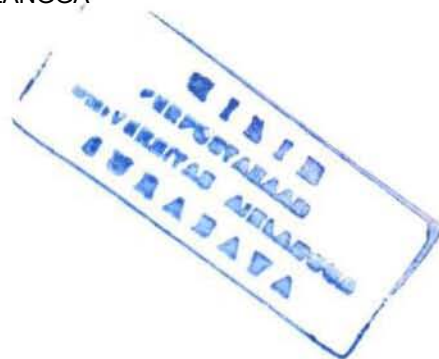
1.5.1 Manfaat teoritis

Mengembangkan pemanfaatan bahan material medis berukuran nano Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* dan menggunakan asam folat sebagai *targeted agent* menjadi salah satu media *delivery system* yang dapat diaplikasikan terhadap pengobatan kemoterapi dengan bahan-bahan alam yang belum banyak dikembangkan sebagai terapi sel kanker.

1.5.2 Manfaat praktis

Meningkatkan efektifitas pengobatan kemoterapi sebagai penatalaksanaan penyakit kanker melalui pengembangan sistem penghantaran obat kemoterapi sehingga menjadi lebih tepat sasaran, tepat dosis, dan dapat mengurangi efek negatif dari terapi kemoterapi.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA



BAB 2

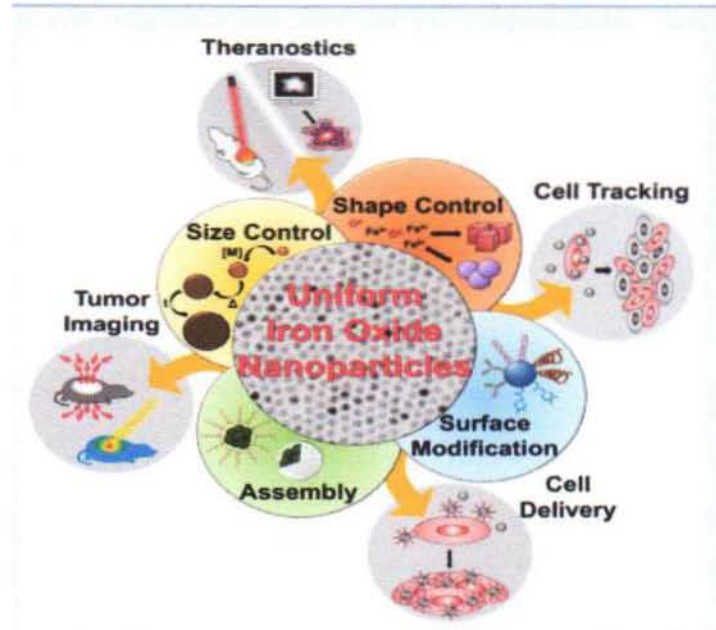
TINJAUAN PUSATAKA

2.1 Nanopartikel Magnetik

2.1.1 Definisi

Nanopartikel merupakan jenis partikel yang berukuran antara 1-100 nanometer. Nanopartikel dalam bidang farmasi mempunyai dua pengertian yaitu senyawa obat yang melalui suatu cara tertentu yang dibuat berukuran nanometer dan disebut dengan nanokristal dan senyawa obat dienkapsulasi dalam suatu sistem pembawa tertentu berukuran nano yang disebut dengan *nanocarrier*. Nanopartikel dapat diperoleh dari senyawa-senyawa organik maupun anorganik, selain itu nanopartikel juga dapat terbentuk dari senyawa logam, sehingga nanopartikel memiliki jenis yang bermacam-macam, seperti nanopartikel polisakarida, nanopartikel karbon, dan nanopartikel magnetik (Scarberry *et al.*, 2008).

Bahan ini menjadi domain magnetik tunggal yang akan memunculkan sifat *superparamagnetic* ketika temperatur suhu meningkat secara signifikan. *Superparamagnetic nanopartikel besi oksida* (SPION) adalah jenis MNPs yang sangat umum diaplikasikan dalam perkembangan dunia biomedis. Dengan sifatnya yang *biokompatibel* dan *biodegradable*, SPION dapat difungsikan sebagai agen kontras pada *Magnetic Resonance Imaging* (MRI), terapi hipertermia, dan media *drug delivery* yang ditargetkan pada diagnosis kanker. Partikel berukuran nano diperlukan agar pengembangan terapi tersebut terbebas dari efek toksisitas seluler (Choi *et al.*, 2014).



Gambar 2.1 Pengembangan Nanopartikel Magnetik
(Ling, Lee, & Hyeon, 2015)

Tujuan pembuatan nanopartikel yaitu untuk meningkatkan stabilitas senyawa aktif terhadap degradasi lingkungan (oksidasi, hidrolisis, dan penguraian enzimatis), memperbaiki sistem penghantaran obat melalui suatu rute tertentu, memperbaiki absorpsi senyawa seperti makromolekul, mempermudah penanganan bahan toksik, menutupi rasa dan bau yang kurang menyenangkan dari suatu zat aktif, mengurangi efek iritasi zat aktif terhadap saluran pencernaan, memodifikasi pelepasan zat aktif, dan meningkatkan kelarutannya dalam air.

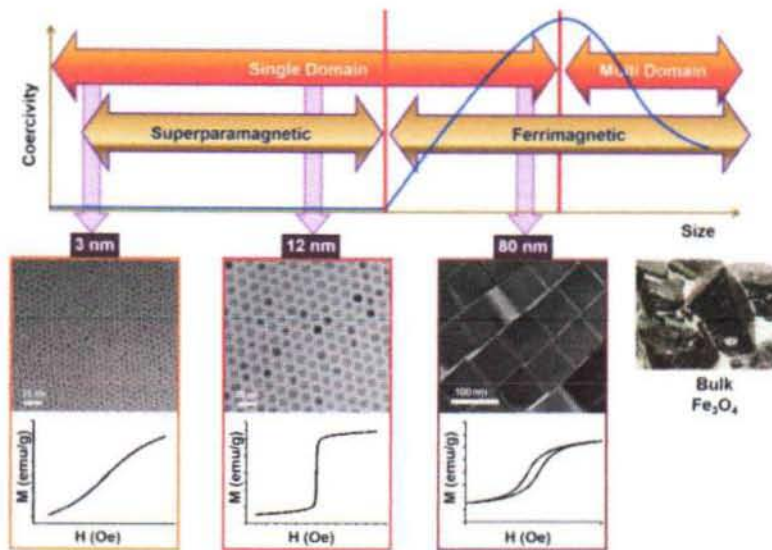
2.1.2 Sifat nanopartikel magnetik

Elektron dalam sebuah atom dapat menunjukkan momentum yang baik dari segi sudut orbital. Berdasarkan hasil studi mengenai listrik dan magnetisasi, diketahui bahwa muatan dengan momentum sudut orbital dapat menghasilkan medan magnet. Hal ini menunjukkan bahwa kedua spin

elektron dan momentum sudut orbital dapat menghasilkan medan magnet pada tingkat atom.

Atom memiliki jumlah elektron yang sama dari atas dan ke bawah, dan pada sudut orbital akan dikonfigurasi sedemikian rupa untuk memiliki total sudut momentum nol. Hal ini menyebabkan medan magnet yang dihasilkan menjadi nol. Namun, sejumlah besar atom pada tabel periodik tidak menghasilkan efek pada medan magnet atau momen magnetik. Dalam sejumlah besar bahan magnetik, agitasi termal acak atau spesifik antar atom menyebabkan momen magnetik mereka menunjukkan cara yang berbeda dengan momen magnetik dari atom disekitarnya (Fahmi, 2014).

Pada skala nano, sifat khas yang muncul pada MNPs adalah efek dari ukuran dan permukaan yang tak terbatas. Untuk efek ukuran yang tak terbatas, ketika ukuran partikel terus berkurang, koersivitas juga akan menurun. Pada penurunan temperatur secara terus-menerus, akan mengubah momen magnetik dari partikel tersebut. Hal ini menyebabkan partikel menjadi acak dan secara spontan mengubah orientasi magnetik akibat fluktuasi termal. Hal ini dikenal sebagai sifat *superparamagnetis* dari suatu magnet. Sifat *superparamagnetis* dapat dicapai pada suhu kamar dalam sistem NP (diameter kisaran 10-100 nm) dengan waktu relaksasi pada urutan milidetik.



Gambar 2.2 Ukuran *Independent Magnetic Nanoparticle Iron Oxide* Menggunakan TEM (Ling *et al.*, 2015)

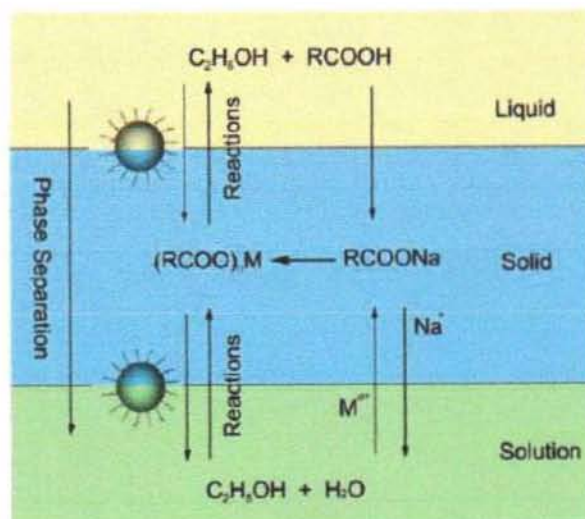
2.1.3 Sintesis nanopartikel magnetik

Sintesis nanopartikel dapat dilakukan dalam fasa padat, cair, maupun gas. Proses sintesis pun dapat berlangsung secara fisika atau kimia. Proses sintesis secara fisika tidak melibatkan reaksi kimia (Ling *et al.*, 2015). Proses sintesis secara kimia melibatkan reaksi kimia dari sejumlah material awal (*precursor*) sehingga dihasilkan material lain yang berukuran nanometer. Dalam dekade terakhir, MNPs sendiri telah disintesis dengan beberapa komposisi, termasuk Fe₃O₄, logam murni (seperti Fe dan Co), jenis ferromagnets spinel-, dan bentuk paduan. Sejumlah metode populer termasuk co-presipitasi, dekomposisi termal dan/atau pengurangan, sintesis misel, sintesis hidrotermal, dan metode laser yang pirolisis semua bisa dijadikan sebagai metode sintesis MNPs berkualitas tinggi dan dalam sebagian besar studi rute sintesis tersebut cukup efisien dan menghasilkan bentuk MNPs yang dapat dikendalikan, dan menghasilkan ukuran yang

stabil (Larrea, Sebastian, Arruebo, & Santamaria, 2015). Sintesis tersebut dilakukan dengan metode sebagai berikut :

a. Solvothermal

Sintesis solvothermal adalah metode untuk mempersiapkan berbagai bahan seperti logam, semikonduktor, keramik, dan polimer. Proses ini melibatkan penggunaan pelarut untuk menghasilkan tekanan tinggi (biasanya antara 1 atm dan 10.000 atm) dan suhu (biasanya antara 100°C dan 1000°C) selama proses sintesis berlangsung. Jika air digunakan sebagai pelarut, metode ini disebut "sintesis hidrotermal." Sintesis bawah kondisi hidrotermal biasanya dilakukan di bawah suhu superkritis air (374°C). Metode ini dapat digunakan untuk mempersiapkan termodinamika yang stabil. Beberapa penelitian menjelaskan sejauh mana teknik sintesis solvothermal merupakan teknik yang penting untuk mengontrol ukuran dari bahan semikonduktor (Wang, 2009).

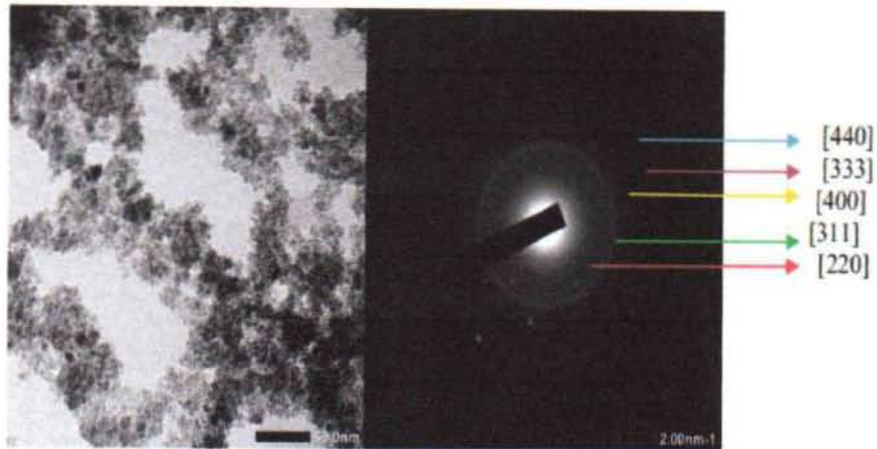


Gambar 2.3 Sintesis Nanopartikel Magnetik (Wang, 2009)

2.1.4 Nanopartikel magnetik (MnFe_2O_4)

Sebagian besar pengembangan nanopartikel yang ada menggunakan nanopartikel berbahan ferrit lunak, salah satunya adalah *manganese ferrit* (MnFe_2O_4). MnFe_2O_4 secara spesifik dapat diaplikasikan dalam perangkat elektronik, *radio frequency coil fabrication*, *drug delivery*, dan *transformer cores*. MnFe_2O_4 memiliki permeabilitas kemagnetan yang tinggi dan resistivitas yang jauh lebih rendah daripada CoFe_2O_4 dan NiFe_2O_4 , serta memiliki biokompabilitas yang tinggi dibandingkan dengan Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, CoFe_2O_4 , dan NiFe_2 . Selain itu MnFe_2O_4 memiliki energi anisotropi yang rendah pada suhu ruang (20°C), kondisi ini akan menyebabkan energi termal pada suhu ruang akan menghalangi energi anisotropi untuk kembali berada pada statenya yang terendah. Fenomena ini kemudian memunculkan sifat superparamagnetik pada nanopartikel tunggal.

Berdasarkan beberapa penelitian dilaporkan bahwa susepsibilitas magnet dari MnFe_2O_4 lebih tinggi dari ferrit lainnya seperti Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 dan NiFe_2O_4 dengan spin magnetik sebesar $5\mu\text{b}$. Hal ini dikarenakan momen magnetik Mn ferit (MnFe_2O_4) sesuai dengan skema kopling N'eel (Tawainella, Riana, Fatayati, Kato, & Iwata, 2014).



Gambar 2.4 Hasil pencitraan TEM nanopartikel MnFe_2O_4 (Tawainella *et al.*, 2014)

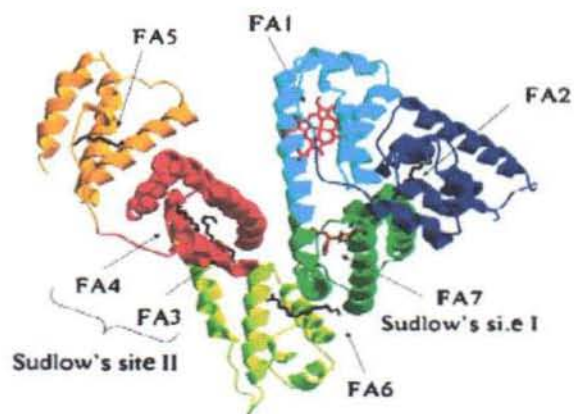
2.2 Human Serum Albumin (HSA)

HSA adalah protein plasma yang paling melimpah (35-50 g/L) dengan rata-rata 19 hari. HSA adalah globular yang sangat larut dalam protein monomer dan terdiri dari 585 residu asam amino dengan relatif berat molekul 6.500Da dan berisi 35 residu cysteinyl membentuk satu kelompok sulfhidril dan 17 jembatan disulfida. HSA memiliki pH yang kuat (stabil di kisaran pH 4-9), suhu (dapat dipanaskan pada suhu 60°C hingga 10 jam) dan pelarut organik. Ketika HSA dipecah, asam amino akan memberikan nutrisi ke jaringan perifer. Sifat biodegradasi dan minimnya toksisitas membuat HSA menjadi kandidat yang ideal untuk dijadikan sebagai penghantar obat (Elzoghby, Samy, & Elgindy, 2012).

2.2.1 Struktur human serum albumin (HSA)

HSA adalah protein rantai tunggal yang disintesis dan disekresi dari sel-sel hati. Biasanya, itu adalah protein sederhana yaitu tidak memiliki prostetik kelompok dan karbohidrat kovalen terikat dan lipid. HSA memiliki 585 asam amino dan massa molekul 66,5 kDa. Karena

sejumlah besar dari asam (98 Glu + Asp) dan dasar (83 Lys + Arg) residu, protein sangat larut dalam media air (> 20% b / b). Tiga – dimensi struktur, tanpa atau dengan ligan terikat, telah ditentukan *crystallographically* di beberapa laboratorium, dan sekarang struktur dikenal di resolusi 2,3 Å. protein memiliki ca. 67 % α - helix tapi tidak ada β - sheet, dan berisi tiga domain homolog yang berkumpul untuk membentuk berbentuk molekul. Masing-masing domain (I- III) terdiri dari dua subdomain (A dan B). A dan B subdomain memiliki enam dan empat α - heliks, masing-masing, dihubungkan dengan loop fleksibel. Semua (Cys34) dari 35 residu sistein yang terlibat dapat menstabilkan pembentukan ikatan disulfida. Berdasarkan hasil studi depolarisasi-hidrodinamik pemodelan gabungan disarankan bahwa konformasi keseluruhan HSA dalam larutan netral sangat mirip dengan yang diamati dalam struktur kristal (Kragh-Hansen, 2013).



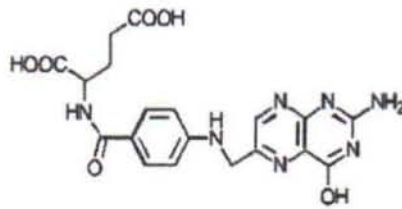
Gambar 2.5 Struktur *Human Serum Albumin*
(Elzoghby *et al.*, 2012)

2.3 Konsep Dasar Asam Folat

2.3.1 Folat dan reseptor folat

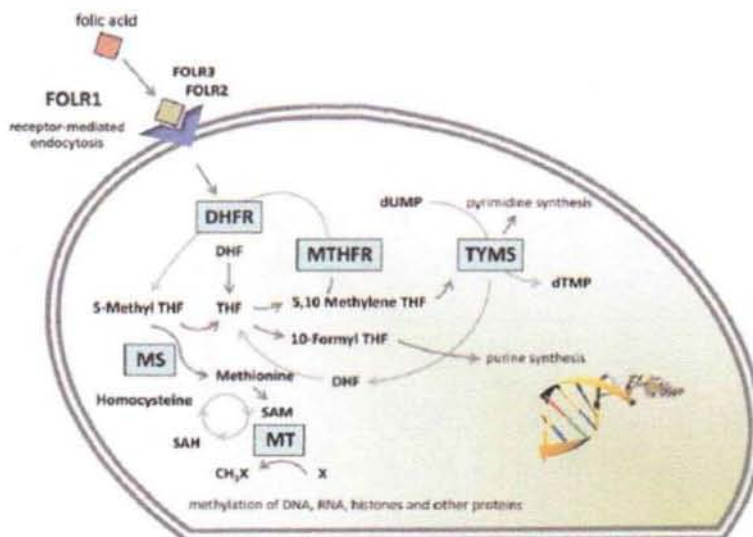
Glycosylphosphatidylinositol merupakan salah satu reseptor folat yang berada pada sebagian besar permukaan sel kanker dan sangat terbatas pada jaringan serta organ yang sehat. Reseptor folat tersebut dapat ditemukan dalam epitel kanker ovarium, serviks, payudara, paru, ginjal, usus, dan otak. Sedangkan pada jenis limfoma, kanker pankreas, testis, kandung kemih, prostat, dan hati tidak menunjukkan peningkatan kadar reseptor folat yang signifikan (Zwicke, Mansoori, & Jeffery, 2012b). Berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan pada pasien yang didiagnosis kanker pada ovarium, ditemukan tingkat folat reseptor berlebih dan selanjutnya berkorelasi dengan nilai histologis yang lebih tinggi dan lebih pada stadium lanjut kanker (Lu & Low, 2012).

Pada jaringan normal, reseptor folat terbatas pada paru-paru, ginjal, plasenta, koroid dan hanya terdapat pada terbatas permukaan apikal epitel yang dikenal sebagai *pteroylglutamate*, yaitu sebuah non-imunogenik yang larut dalam air dan vitamin B untuk proses sintesis DNA, metilasi, dan perbaikan sel. Folat reseptor ini awalnya ditemukan pada plasenta tikus yang merupakan isoform dari FR yang paling umum dikarenakan status hematopoietik dan nonepithelial sel, seperti limpa dan timus. Folat reseptor ini juga meningkat pada beberapa keganasan dari nonepithelial asal, termasuk leukemia myelogenous dan sarkoma (Lu & Low, 2012).



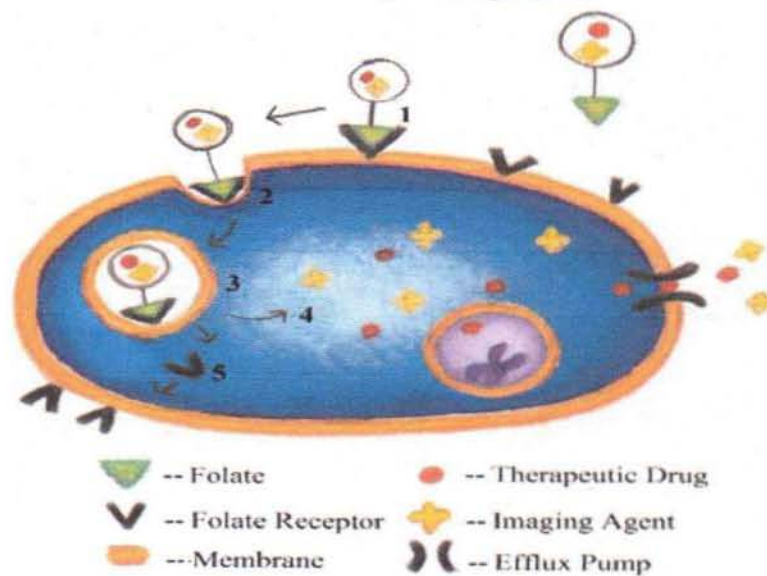
Gambar 2.6 Struktur Molekul Asam Folat (Zwicke, Mansoori, & Jeffery, 2012a)

Folat reseptor dapat diukur di dalam tubulus proksimal ginjal dan pleksus koroid otak. Pada tubulus proksimal, FR hanya tampak pada apikal dan luminal sel tubulus, yang dapat membantu dalam reabsorpsi folat dari urin. Dengan demikian, makromolekul folat bertarget hanya terdapat pada ginjal pada individu yang menderita proteinurea dan fungsi ginjal yang terganggu. Demikian pula, FR di otak tampak terkonsentrasi di sisi otak dari sawar darah otak, di mana mereka dapat berfungsi untuk mempertahankan vitamin dalam cairan cerebrospinal (Lu & Low, 2012).



Gambar 2.7 Proses Kerja Asam Folat (Zwicke *et al.*, 2012a)

Asam folat memiliki beberapa sifat antara lain stabil dalam berbagai suhu dan nilai pH, non-imunogenik, dan mampu berikatan dengan reseptor folat. Setelah folat menempel pada reseptor yang terletak di dalam *caveolae* melalui jalur *endocytotic*. Selanjutnya endosome akan berada pada pH 5 sehingga hal tersebut menstimulasi folat memisahkan dari reseptor dan kemudian obat akan segera dilepaskan.



Gambar 2.8 Proses Endositosis Asam Folat dan Reseptor Folat
(Zwicke *et al.*, 2012a)

2.3.2 Selektifitas tumor terhadap folat

Dalam berbagai penelitian, selektivitas folat pada tumor secara *in-vivo* telah dikembangkan pada tikus yang menderita tumor menggunakan berat molekul folat terkait radiofarmasi yang rendah. Bahkan, setelah pemeriksaan radioimaging beberapa generasi agen berbasis folat seperti kompleks dengan berbagai radionuklida larut dalam air. *Dietilnatriamina asam pentaacetic (DTPA)-folate* dan folat konjugat berbasis Tc (EC20, Endocyte, West Lafayette), merupakan jenis folat yang memenuhi syarat untuk dilakukan uji klinis pada manusia. Akurasi dan deteksi sensitivitas

dari folat terhadap sel kanker menggunakan agen pencitraan mendapatkan hasil yang baik, karena hanya terdapat sedikit serapan pada organ lain yaitu pada ginjal dan hati yang pernah diamati pada pasien dengan tumor jinak.

2.4 Konsep Kanker

2.4.1 Pengertian kanker

Kanker merupakan penyakit sel, yang ditandai dengan hilangnya kontrol terhadap mekanisme yang mengatur proses bertahan hidup, proliferasi dan diferensiasi sel. Proliferasi sel yang berlebihan, akan mengakibatkan terbentuknya benjolan pada bagian tubuh tertentu yang disebut tumor. Tumor yang terdiri dari sel abnormal dan bersifat ganas disebut kanker (*cancer*). Suatu sel normal dapat berubah menjadi sel kanker karena berbagai sebab yang mengakibatkan terjadinya perubahan dan *Deoxyribonucleid Acid (DNA)* sel tersebut. Sel normal yang telah mengalami transformasi menjadi sel kanker, mengekspresikan protein-protein khusus pada permukaan sel, menunjukkan tanda-tanda imaturitas dan abnormalitas kromosom. Abnormalitas kromosom terjadi karena adanya berbagai traslokasi pada urutan gen (Agus Leo Firdaus, 2012).

Gen yang terlibat dalam pengaturan proliferasi dan diferensiasi sel normal disebut protoonkogen. Protoonkogen dapat mengalami aktivasi oleh paparan bahan karsinogen, menjadi onkogen aktif dan memacu proliferasi sel secara berlebihan. Pada kondisi normal proliferasi sel yang meningkat akan segera dikendalikan oleh gen penghambat tumor (*tumor supresor gen*), sehingga proliferasi sel menjadi normal kembali. Bila terjadi kerusakan DNA karena berbagai sebab, gen P53 sebagai gen penghambat tumor akan

menghentikan replikasi DNA pada *check point* dan memberi kesempatan kepada DNA untuk memperbaiki diri. Bila proses perbaikan DNA yang mengalami kerusakan ini gagal, maka gen P53 akan memacu terjadinya kematian sel melalui dua mekanisme, yaitu penghentian siklus sel dan aktivasi jalur apoptosis. Jika gen P53 mengalami mutasi, maka akan terganggu fungsinya sebagai penghambat tumor, sehingga DNA yang abnormal dapat terus berproliferasi. Proliferasi sel abnormal yang terus terjadi dan tidak dapat dikendalikan oleh mekanisme pengendalian proliferasi sel normal, selanjutnya berkembang menjadi klonal sel kanker (Agus Leo Firdaus, 2012).

Pada kondisi normal, DNA yang cacat dan tidak bisa lagi diperbaiki akan mengalami apoptosis. Sel kanker tidak peka terhadap sinyal apoptosis (*evasion of apoptosis signals*), pada hal sel kanker mengalami kerusakan DNA yang bersifat *irreversible*. Kegagalan sel kanker dalam merespon sinyal apoptosis disebabkan karena terjadinya mutasi gen-gen pengatur apoptosis dan gen-gen sinyal apoptosis. Sel normal mengenal dan mampu menghentikan pembelahan sel nya bila sudah mencapai jumlah tertentu dan mencapai pendewasaan. Perhitungan jumlah sel ini ditentukan oleh pemendekan telomer pada kromosom yang akan berlangsung setiap ada replikasi DNA. Sel kanker memiliki mekanisme tertentu untuk tetap menjaga telomer tetap memanjang, hingga memungkinkan untuk tetap membelah diri. Kecacatan dalam regulasi pemendekan telomer inilah yang memungkinkan sel kanker memiliki potensi replikasi tidak terbatas (Agus Leo Firdaus, 2012).

Sel normal memiliki ketergantungan terhadap pembuluh darah untuk mendapatkan suplai oksigen dan nutrien yang diperlukan untuk hidup. Arsitektur pembuluh darah pada sel normal lebih sederhana atau konstan sampai dengan sel itu dewasa. Sel kanker mampu menginduksi angiogenesis, yaitu pertumbuhan pembuluh darah baru disekitar jaringan kanker. Pembentukan pembuluh darah baru ini diperlukan untuk survival sel kanker dan ekspresi ke bagian lain dari tubuh (metastase). Kegagalan pada pengaturan keseimbangan aktivitas penginduksi angiogenesis (*angiogenic inducer*) dan penghambat angiogenesis (*angiogenic inhibitor*) dapat mengakibatkan perubahan pada pengaturan angiogenesis (*angiogenic switch*) dan meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru di daerah sel kanker (Agus Leo Firdaus, 2012).

Sel normal memiliki kepatuhan untuk tidak berpindah ke lokasi lain, sedangkan sel kanker dapat berpindah (migrasi) ke jaringan atau organ lain di dalam tubuh. Perpindahan sel kanker dari lokasi primernya ke lokasi sekunder atau tertiernya merupakan faktor utama adanya kematian yang disebabkan karena kanker. Mutasi DNA memungkinkan peningkatan aktivitas enzim-enzim yang terlibat pada invasi sel kanker pada jaringan lain misalnya *matrix metalloproteinase (MMPs)*. Mutasi juga memungkinkan berkurangnya atau hilangnya adhesi antar sel, sehingga sel mudah terpisah dari kelompok sel sejenisnya (Agus Leo Firdaus, 2012).

2.4.2 Penyebab kanker

Penyebab kanker hingga saat ini belum diketahui secara pasti, tetapi diyakini beberapa faktor yang diyakini meningkatkan risiko terjadinya kanker. Faktor-faktor tersebut diantaranya adalah faktor genetik, pola dan jenis makanan, aktifitas fisik (olahraga), paparan bahan karsinogen dan lain-lain. Suatu bahan yang dapat menyebabkan atau memicu terjadinya kanker disebut bahan karsinogen. Menurut cara kerjanya, karsinogen dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok utama yaitu karsinogen genotoksik dan karsinogen non genotoksik (Stéhelin, 1995).

Karsinogen genotoksik menginisiasi tumor dengan cara mengikat DNA dan menimbulkan kerusakan genetik yang *irreversible*. Contoh bahan karsinogen genotoksik diantaranya adalah bahan kimia dan bahan non kimia, sedangkan karsinogen non genotoksik, disebut juga karsinogen epigenetik, tidak merusak DNA tetapi meningkatkan pertumbuhan tumor yang terinduksi oleh karsinogen genotoksik. Karsinogen non genotoksik bekerja sebagai karsinogen yang meningkatkan efek karsinogen genotoksik bila diberikan bersamaan atau meningkatkan kadar zat reaktif di tempat kerjanya. Karsinogen epigenetik juga dapat menjadi promotor yang meningkatkan efek inisiator bila diberikan sesudahnya (Agus Leo Firdaus, 2012).

Manusia dan mamalia lain memiliki kemampuan untuk mengeliminasi bahan karsinogen yang masuk ke dalam tubuhnya melalui proses biotransformasi, yaitu serangkaian reaksi di dalam tubuh yang akan merubah struktur kimia suatu senyawa (bahan karsinogen) menjadi lebih

larut air sehingga dapat dikeluarkan dari dalam tubuh. Tetapi reaksi biotransformasi juga dapat mengubah suatu bahan prokarsinogen menjadi karsinogen aktif. Sebagian besar karsinogen kimia yang banyak dikenal tergolong prokarsinogen, yaitu karsinogen yang memerlukan biotransformasi agar menjadi karsinogen aktif. Karsinogen aktif tersebut dapat menimbulkan perubahan atau mutasi pada DNA, RNA, atau protein sel lain dalam tubuh. Jika perubahan atau mutasi gen yang terjadi tidak dapat dikenali dan diperbaiki, dan tidak mengalami apoptosis, maka sel abnormal tersebut akan berproliferasi terus dan menjadi sel ganas atau sel kanker (Agus Leo Firdaus, 2012).

Beberapa jenis virus kelompok virus DNA dan RNA juga bersifat karsinogenik. Virus yang bersifat karsinogenik disebut virus onkogenik. Virus DNA penyebab tumor yang penting antara lain dari kelompok adenovirus, herpesvirus dan hepanavirus. Sedangkan virus RNA antara lain Retrovirus tipe C dan tipe B (Stéhelin, 1995). Beberapa jenis agen biologik lain yang dapat menyebabkan terjadinya kanker yaitu hormon, mikotoksin dan parasit. Beberapa jenis hormon kemungkinan bekerja sebagai kofaktor pada karsinogenesis.

Energi radiasi juga dapat bersifat karsinogenik. Sinar ultraviolet, sinar-X dan sinar gama bersifat mutagenik dan karsinogenik. Semua bentuk sinar ini merusak DNA melalui beberapa cara. Kerusakan pada DNA diperkirakan menjadi mekanisme dasar timbulnya karsinogenesis akibat energi radiasi. Selain berefek langsung pada DNA, sinar-X juga menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam jaringan, yang dapat

TESIS

**EFEKTIFITAS NANOPARTIKEL MAGNETIK ($MnFe_2O_4$) BERLAPIS
HUMAN SERUM ALBUMIN (HSA) TERTARGET RESEPTOR FOLAT
SEBAGAI MEDIA *DELIVERY SYSTEM* TERHADAP SEL KANKER
TIKUS STRAIN WISTAR**



FASIH BINTANG ILHAMI
091425053001

SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2016

TESIS

**EFEKTIFITAS NANOPARTIKEL MAGNETIK ($MnFe_2O_4$) BERLAPIS
HUMAN SERUM ALBUMIN (HSA) TERTARGET RESEPTOR FOLAT
SEBAGAI MEDIA *DELIVERY SYSTEM* TERHADAP SEL KANKER
TIKUS STRAIN WISTAR**

Untuk memperoleh Gelar Magister

Dalam Program Studi Teknobiomedik

Pada Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga

Tanggal Lulus : 20 Oktober 2016

Oleh :

FASIH BINTANG ILHAMI
091425053001

Disetujui Oleh :

Pembimbing I



Dr. ANDI HAMIM ZAIDAN., M.Si

NIP.19830422206041501

Pembimbing II



Dr. BAMBANG PURWANTO., dr., M.Kes

NIP. 198008282006041002

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI

TANGGAL , 25 OKTOBER 2016

Oleh :

Pembimbing Ketua


Dr. ANDI HAMIM ZAIDAN., M.Si

NIP.1983042206041501

Pembimbing


Dr. BAMBANG PURWANTO., dr., M.Kes

NIP. 198008282006041002

Mengetahui

KPS


Dr. SURYANI DYAH ASTUTI., M.Si

NIP. 196908041994122001

Telah diuji pada

Tanggal 20 Oktober 2016

PANITIA PENGUJI TESIS

1. Dr.Andi Hamim Zaidan., M.Si
2. Dr.Bambang Purwanto., dr., M.Kes
3. Prof. Dr. I Ketut Suidiana Sandi., M.Si
4. Mochamad Zaki Fahmi., M.Si.,Ph.D
5. Dr. Suryani Dyah Astuti., M.Si

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Fasih Bintang Ilhami
NIM : 091425053001
Program Studi : Teknobiomedik
Minat Studi : Biomaterial
Angkatan : 2014
Jenjang : Magister



Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan tesis saya yang berjudul :

EFEKTIFITAS NANOPARTIKEL MAGNETIK ($MnFe_2O_4$) BERLAPIS HUMAN SERUM ALBUMIN (HSA) TERTARGET RESEPTOR FOLAT SEBAGAI MEDIA *DELIVERY SYSTEM* TERHADAP SEL KANKER TIKUS STRAIN WISTAR

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 25 Oktober 2015

METERAI TEMPEL
4453AADF799050R3T
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Fasih Bintang Ilhami
091425053001

A 6000 Rupiah postage stamp featuring the Garuda Pancasila emblem and a handwritten signature in black ink.

berinteraksi dengan DNA pada makromolekul lain sehingga terjadi kerusakan molekuler (Agus Leo Firdaus, 2012).

a. Karsinogen

Bahan yang dapat mempengaruhi timbulnya kanker disebut sebagai karsinogen. Faktor penyebab kanker tersebut antara lain radiasi, senyawa kimia, virus, dan hormonal. Bahan karsinogen dapat juga dikelompokkan dalam 3 kelompok yaitu; 1) karsinogen fisik, 2) karsinogen kimia, 3) karsinogen biologis (Abel., 2008 dalam Firdaus, 2015). Beberapa kelompok bahan karsinogen kimiawi yang telah diketahui, diantaranya adalah : a) Hidrokarbon aromatik polisiklik (*polycyclic aromatic hydrocarbon*)/PAH, contoh *benzopiren*, *dimetilbenzantracen*; b) Amin aromatik, contoh *2-asetilaminofluoren*, c) Nitrosamin, contoh *dimetilnitrosamin*, *N-Nitrosomethylurea*, d) berbagai obat, contoh zat alkilasi (siklofosfamid), e) senyawa yang terdapat di alam, contoh aflatoksin B, dan f) Senyawa anorganik, contoh arsen, asbes, berilium, kadmium, kromium, styrofoam (Agus Leo Firdaus, 2012).

b. Mekanisme kerja karsinogen

Bahan karsinogen dapat langsung berinteraksi dengan molekul sasaran (karsinogen direk) dan sebagian ada yang memerlukan metabolisme terlebih dahulu menjadi unsur karsinogenik (prokarsinogenik). Proses katalis enzim yang mengubah prokarsinogenik menjadi karsinogen aktif, dinamakan pengaktifan metabolik. Senyawa antara yang terbentuk dalam proses ini disebut karsinogen antara

(*proximate carcinogen*), senyawa akhir yang bereaksi dengan komponen seluler misalnya DNA, disebut karsinogen akhir (*ultimate carcinogen*). Dengan demikian rangkaian perubahan menjadi : prokarsinogen – karsinogen antara (proksimat) – karsinogen akhir (ultimat).

Prokarsinogen tidak bersifat reaktif, sedang karsinogen akhir seringkali sangat reaktif. Karsinogen akhir biasanya merupakan elektrofil, yaitu molekul yang kekurangan elektron. Sasarannya adalah molekul yang kaya elektron (nukleofilik) di dalam DNA, RNA, dan protein. Karsinogen kimia dan juga obat-obatan, digolongkan dalam xenobiotik, yaitu merupakan senyawa asing bagi tubuh. Sebagian besar senyawa ini akan mengalami metabolisme dalam tubuh manusia, terutama hati, dan sebagian akan di eksresi, dikeluarkan dari tubuh.

Enzim yang bertanggungjawab atas pengaktifan prokarsinogen adalah spesies sitokrom P-450, yang terletak di *endoplasmic reticulum*. Aktifitas enzim ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti usia, jenis kelamin. Karsinogen kimia pada umumnya akan membentuk ikatan kovalen dengan makromolekuler seluler, seperti DNA, RNA dan protein. Sifat kimia hasil adisi bahan karsinogen dengan DNA (*adduct*) telah diketahui. Sasaran bahan karsinogen adalah purin atau piramidin, dan paling lazim terkena adalah guanin (Agus Leo Firdaus, 2012).

c. *Benzopyrene*

Benzopyrene (B9(a)P) adalah senyawa poli hidrokarbon aromatis yang terdapat pada batu bara, minyak, asap rokok, gas, buangan motor dan makanan yang dipanggang atau diasap. *Benzopyrene* berupa kristal

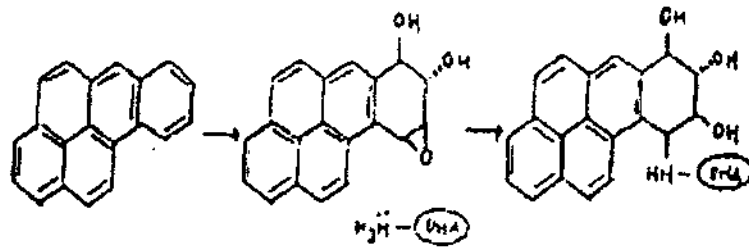
kuning, berbentuk jarum, massa molekul = 252,3 dengan titik lebur 179-179,3°C. *Benzopyrene* adalah salah satu senyawa yang paling banyak diteliti karena sangat karsinogenik (Arundina, 2008). *Benzopyrene* menghasilkan senyawa metabolik genotoksik *BP-7,8-diol-9,10-oxide*. Senyawa genotoksik umumnya diklasifikasikan berdasarkan susunan kimiawi, terbagi menjadi dua kategori yaitu pertama senyawa yang secara langsung bersifat genotoksik dan yang kedua senyawa metabolik yang bersifat genotoksik akibat proses biotransformasi, bisa bersifat promutagen atau secara langsung bersifat mutagen. Kerja langsung agen genotoksik sering memiliki perangkat elektrofilik dan kemudian bereaksi dengan molekul nukleofilik seperti DNA, tergolong senyawa ini adalah *Alkil Sulfat, Alkil Alkane Sulfonat, Aldehyde, Epoxide, Mustards, Aziridine*. Genotoksik tak langsung mempunyai mekanisme melalui aktivasi enzimatik atau biotransformasi. Sering bersifat lipofilik kemudian sel merubah mereka menjadi produk larut air. Efek samping konversi ini dihasilkan elektrofilik yang dapat bereaksi dengan beberapa nukleofilik yang ada yaitu protein, DNA dan RNA, di sinilah awal terjadinya mutasi genetik. Contoh senyawa yang termasuk genotoksik tak langsung adalah Alifatik tak jenuh, Aromatik Hidrokarbon, Nitrosamine dan Nitrozamide (Arundina, 2008).

Benzopyrene merupakan bahan prokarsinogenik yang akan menjadi karsinogen jika terbentuk senyawa *promimate carcinogen dan ultimate carcinogen* dengan hanya aktivitas enzimatik. Pada tahap awal, B(a)P di dalam sel mengalami reaksi epoksidasi pada posisi 7,8 oleh

Mixed Function Oxidase (MFO) yang mengandung berbagai bentuk sitokrom p-450 berlokasi pada membran retikulum endoplasma dan DNA inti sel. Senyawa 7,8 arenoksia B(a)P melalui reaksi non enzimatis. Senyawa 7,8-arenoksida B(a)P akan menjadi karsinogen dikatils oleh enzim epoksida hidrolase menjadi 7,8-diol, lalu dioksidasi oleh enzim monooksigenase membentuk *ultimate carcinogen* yaitu 7,8-diol-9,10-oxide yang merupakan senyawa yang sangat reaktif. Mekanisme onkogenesis yang merupakan proses perubahan *protooncogene* menjadi *oncogene* terjadi dengan cara mengikat basa guanin DNA sehingga terjadi gangguan replikasi DNA mengakibatkan terjadi pertumbuhan tumor (Arundina, 2008).

Ketika aktivitas sitokrom p-450 rendah terutama diluar jaringan sel hati maka B(a)P dapat di matabolisme oleh enzim cyclooxygenase 2, dengan cara membentuk *radical peroxy* dengan menambah molekul oksigen yang mengisolasi C9-C10 ikatan rangkap dari B(a)P-7,8-diol membentuk B(a)P-7,8-diol-9,10-oxide. *Diol oxide* ini bersifat sangat relatif dan akan membentuk ikatan kovalen dengan DNA terutama pada basa adenin dan guanin (Arundina, 2008).

Benzopyrene dapat menimbulkan mutasi P53 dan *oncogene ras* sehingga menimbulkan kanker kulit pada mencit (Martin *et al*, 2001). *Benzopyrene* terbukti dapat meningkatkan P53 mutan pada perokok yang menderita karsinoma sel skuamosa rongga mulut (Arundina, 2008).



Gambar 2.9 Ikatan kovaen B(a)P-7,8-diol-9,10 *oxide* dengan DNA
(Arundina, 2008)

2.4.3 Proliferasi sel

Pada sel normal terdapat keseimbangan antara faktor pertumbuhan sel dan faktor kematian sel yang dipengaruhi oleh *protooncogene* dan *suppresor gene*. Pertumbuhan sel terjadi karena penambahan ukuran dan jumlah sel dari populasi sel yang aktif melakukan siklus sel atau aktivitas proliferasi. Keseimbangan dalam pertumbuhan harus terkontrol. Pada manusia dewasa jumlah sel relatif tetap, mitosis pada manusia dewasa bertujuan untuk menggantikan sel yang mati karena proses apoptosis atau nekrosis. Kegagalan kontrol keseimbangan mekanisme tersebut dapat mengakibatkan siklus sel yang tidak terkendali (Arundina, 2008). Siklus pertumbuhan sel secara biokimiawi dibedakan menjadi 5 fase, yaitu :

- a. Fase G_0 , pada fase ini merupakan fase istirahat dari semua aktivitas mitotik, meskipun masih melakukan metabolisme normal. Begitu juga dengan mekanisme perbaikan DNA, bila perlu akan diaktifkan selama fase ini berlangsung. Durasi waktu fase ini sangat bervariasi untuk masing-masing sel.
- b. Fase G_1 , pada fase ini terjadi persiapan yang diperlukan untuk sintesis DNA yang akan terjadi dalam fase S.

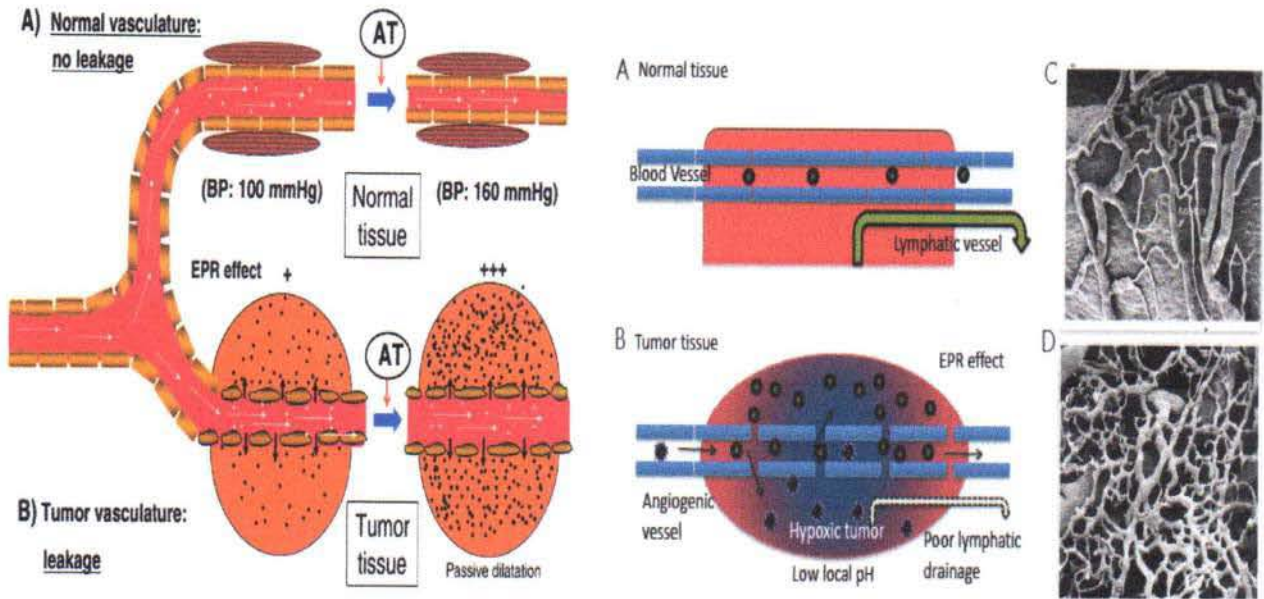
- c. Fase S, pada fase ini terjadi aktivitas replikasi DNA.
- d. Fase G₂, pada fase ini terjadi persiapan untuk pembelahan sel yang akan terjadi pada fase M.
- e. Fase M, pada fase ini terjadi aktivitas separasi kromosom (karyokinesis) dan pembelahan sel (sitokinesis) termasuk di dalamnya proses mitosis yang terdiri dari profase, metafase, anafase, telofase.

2.4.4 Vaskularisasi tumor

- a. Struktur pembuluh darah tumor dan limfatik yang mengalami gangguan

Angiogenesis yang aktif di dalam tumor, dapat ditemukan menggunakan mikroskop elektron. Sistem vaskular dari pembuluh darah tumor yang diperoleh dengan menggunakan resin polimer menunjukkan perbedaan yang jelas antara pembuluh darah tumor dan pembuluh darah darah normal. Selain itu juga terjadi perbedaan antara volume aliran darah di jaringan tumor dan jaringan normal. Volume aliran darah di jaringan normal akan selalu konsisten, terlepas dari tekanan darah yang dipengaruhi oleh infusikan angiotensin II. Akan tetapi pada jaringan tumor, volume aliran darah mengalami perubahan (kenaikan) yang sangat signifikan dari angiotensin II untuk mencapai tekanan darah yang lebih tinggi. Di dalam jaringan tumor, arah aliran darah bisa berubah tiba-tiba yaitu aliran mungkin berhenti atau mulai dalam keadaan yang tidak menentu, dan ekstrasvasasi berlebihan dapat terjadi. Pembuluh darah tumor juga memberikan manifestasi besar, yaitu celah sel-sel endotel yang memungkinkan kebocoran makromolekul ke dalam ruang

interstitial dari jaringan tumor. Drainase limfatik dalam jaringan tumor sangat terganggu (Maeda, Nakamura, & Fang, 2013).



Gambar 2.10 Sistem Vaskularisasi Sel Normal dan Sel Tumor (Maeda *et al.*, 2013)

2.4.5 Dasar molekuler kanker (Karsinogenesis)

Proses karsinogenesis merupakan proses dasar molekuler kanker, ada beberapa prinsip yang mendasari yaitu adanya kerusakan genetik non letal yang disebabkan akibat pengaruh lingkungan, seperti zat kimia, radiasi atau virus, atau diwariskan dalam sel germinativum. Sebagian besar dari faktor lingkungan tersebut memiliki sifat biologis yang sama dapat menyebabkan kerusakan pada DNA. Kesamaan sifat ini menimbulkan dugaan bahwa DNA sel merupakan sasaran utama semua bahan karsinogenik dan kanker dapat disebabkan karena adanya perubahan DNA sel. Secara umum, kerusakan DNA akan mengaktifkan jalur checkpoint yang mengatur mekanisme *DNA repair* spesifik pada berbagai fase siklus sel. Setelah kerusakan DNA diperbaiki, siklus sel yang terhenti pada checkpoint akan

meneruskan siklusnya tetapi apabila gagal sel akan menghentikan siklus sel selamanya dan atau mengalami apoptosis (Arundina, 2008). Salah satu konsekuensi hilangnya fungsi gen *DNA repair* adalah instabilitas genetik, yang pada akhirnya mengakibatkan akumulasi mutasi genetik dan terjadinya kanker. Mutasi genetik yang terjadi adalah, 1) *Activation of growth promoting-oncogenes*; 2) *Inactivation tumor suppressor gene*; 3) *Alteration in genes that regulate apoptosis* yang ketiganya menyebabkan *tumor progression* (Maeda *et al.*, 2013).

Pada umumnya diperlukan dua perubahan penting untuk transformasi ganas. Pertama adanya kemampuan untuk tumbuh dan berkembang tanpa stimulasi dari luar (*autocrine*), baik melalui produksi regulator, aktivasi reseptor secara terus menerus atau transduksi sinyal yang abnormal dalam jalur transduksi mulai dari reseptor hingga gen relevan dalam nukleus. Kelainan yang kedua adalah kesalahan intrinsik dalam komitmen differensiasi dari sel-sel yang memberikan respons terhadap stimulasi diatas karena tidak ada komitmen differensiasi yang terbentuk adalah sel-sel yang sama dengan induknya (Arundina, 2008).

Seperti telah diketahui bahwa ada empat kelas gen regulatorik normal, yakni protoonkogen yang mendorong pertumbuhan; tumor supresor gen yaitu gen penekan kanker yang akan menghambat pertumbuhan (*antionkogen*); dan gen yang mengatur kematian sel terencana (*programmed cell death*) atau apoptosis adalah sasaran utama pada kerusakan genetik. Selain ketiga kelas gen diatas adalah kategori gen keempat yaitu gen yang mengatur perbaikan DNA yang rusak (*DNA repair*). Berkaitan dengan

proses karsinogenesis maka peran gen yang memperbaiki DNA sangatlah penting karena mempengaruhi proliferasi atau kelangsungan hidup sel secara tidak langsung dengan mempengaruhi kemampuan organisme memperbaiki kerusakan non letal di-gen lain terutama ketiga gen protoonkogen, penekan tumor dan gen yang mengendalikan apoptosis. Kerusakan pada gen *DNA repair* ini dapat memudahkan terjadinya mutasi luas di genom dan transformasi neoplastik (Maeda *et al.*, 2013).

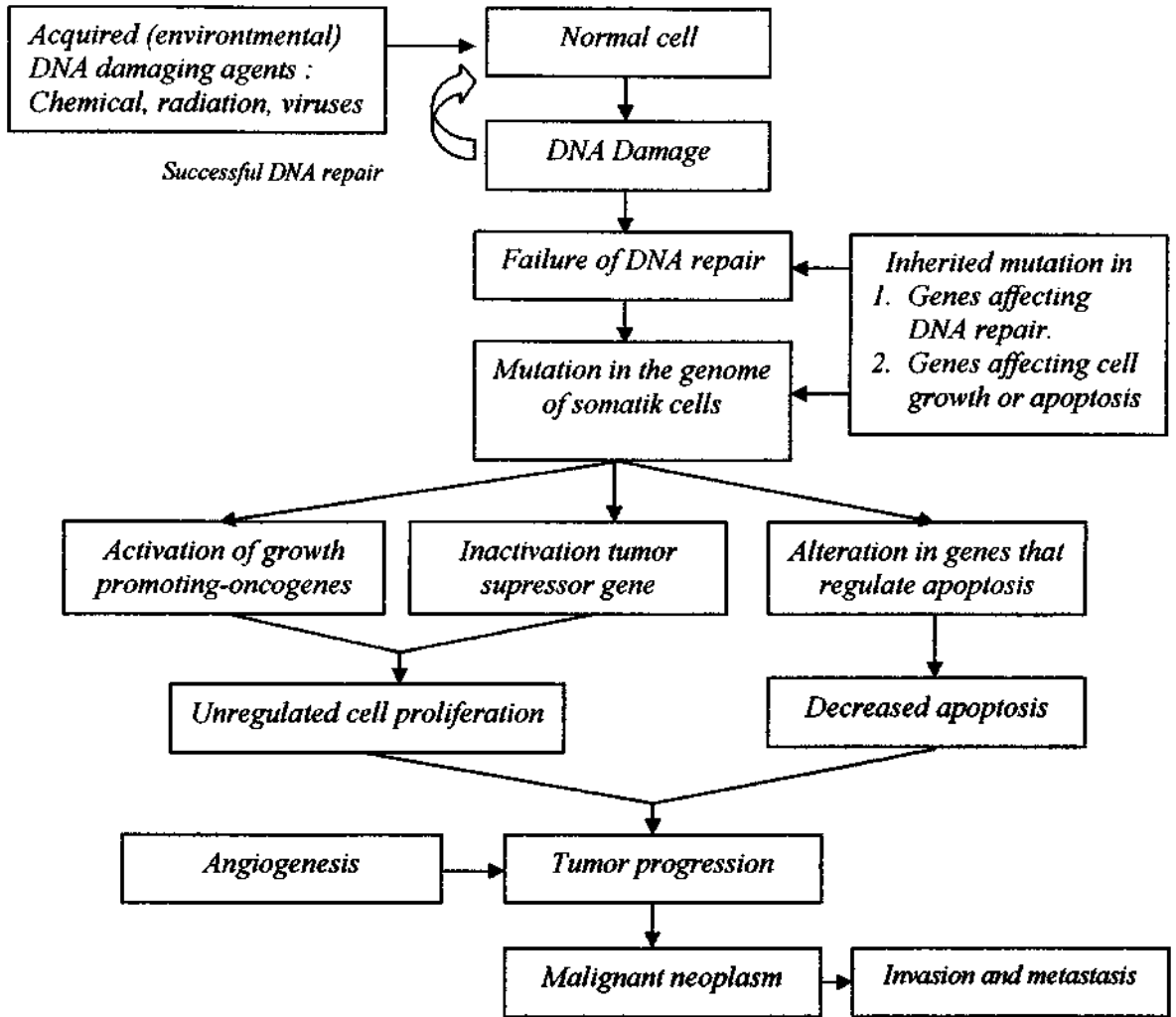
Onkogen terjadi melalui mutasi protoonkogen menjadi onkogen terutama gen-gen yang berperan dalam proses pertumbuhan dan diferensiasi sel. Pada sel normal ekspresi protoonkogen ini diperlukan untuk perkembangan dan pertumbuhan dan tidak mengakibatkan keganasan karena aktivitasnya dikontrol secara ketat (Arundina, 2008). Mutasi protoonkogen menjadi onkogen dapat terjadi melalui perubahan struktural dalam gen, translokasi kromosom, mutasi berbagai elemen dan yang paling sering terjadi pada sel yang berproliferasi aktif, namun perubahan kearah ganas dapat dicegah dengan bantuan ekspresi berbagai gen supresor (*tumor supresor genes* atau anti onkogen) yang berperan menginduksi terhentinya siklus sel atau menginduksi proses apoptosis. Apabila fungsi gen-gen yang berperan dalam *surveillans* ini terganggu akibat mutasi atau hilang (*deletion*), sel bersangkutan menjadi rentan terhadap transformasi ganas. Dengan demikian terbukti bahwa kanker terjadi melalui proses bertahap dalam jangka waktu panjang, sehingga diduga bahwa keganasan terjadi apabila ada akumulasi kelainan berbagai gen yang saling melengkapi dan

satu dengan lain berinteraksi untuk menghasilkan fenotipe ganas (Stéhelin, 1995).

Banyak fungsi seluler didasarkan atas fungsi transisi sinyal pertumbuhan yang diinduksi oleh faktor pertumbuhan dengan berikatan pada reseptornya dimembran sel kemudian sinyal tersebut diteruskan, melalui kaskade fosforilasi dan defosforilasi protein dalam sitoplasma, ke nukleus. Oleh karenanya penting yang diperhatikan adalah bermacam gen yang terlibat dalam transduksi sinyal tersebut merupakan onkogen potensial. Dari berbagai penelitian terungkap bahwa prototip onkogen ini menjadi berbagai faktor pertumbuhan, hormon dan masing-masing reseptornya, dan berbagai faktor transkripsi (Stéhelin, 1995).

Patogenesis molekular kanker bisa dijelaskan sebagai berikut yang disebabkan oleh zat karsinogenik sehingga menyebabkan perubahan gen, dimana tiap gen kanker memiliki fungsi spesifik. Terdapat enam perubahan mendasar dalam fisiologi sel yang bersama-sama menentukan fenotipe ganas yaitu :

- a. *Self-sufficiency* (menghasilkan sendiri) sinyal pertumbuhan.
- b. Insensitivitas terhadap sinyal penghambat pertumbuhan.
- c. Menghindari apoptosis.
- d. Mempunyai potensi replikasi tanpa batas (mengalahkan penuaan sel).
- e. Angiogenesis berkelanjutan.
- f. Kemampuan menginvasi dan beranak sebar secara luas.



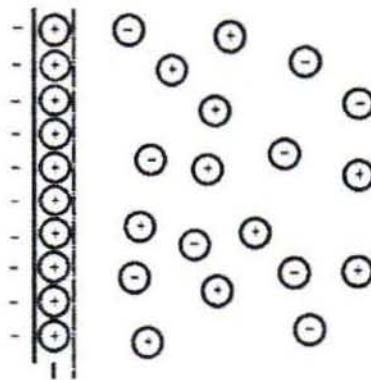
Gambar 2.11 Low Chart Depicting a Simplified Scheme of The Molecular Basis of Cancer (Maeda et al., 2013)

Mutasi pada gen yang mengendalikan sifat sel ini ditemukan pada semua sel kanker. Namun jalur genetik pasti yang menimbulkan ciri-ciri ini berbeda antar jenis kanker walaupun pada organ yang sama. Apabila gen yang secara normal dapat mendeteksi dan memperbaiki kerusakan DNA ini terganggu atau lenyap, instabilitas genom yang terjadi akan cenderung memudahkan terjadinya mutasi pada gen yang mengendalikan kemampuan diatas pada sel kanker tersebut.

2.5 Voltametri

Voltametri merupakan salah satu teknik analisis yang didasarkan pada pengukuran arus sebagai fungsi dari potensial. Timbulnya arus disebabkan oleh adanya reaksi oksidasi dan reduksi pada permukaan elektroda. Proses yang terjadi dapat dijelaskan menggunakan teori lapis rangkap listrik atau permukaan *Helmholtz* (Harvey, 2000).

Teori ini menjelaskan bahwa ketika elektroda kerja dihubungkan dengan suatu sumber listrik, maka permukaan elektroda akan memiliki muatan listrik, maka permukaan elektroda akan memiliki muatan listrik. Besar dan jenis muatan listrik pada permukaan elektroda sangat bergantung pada potensial listrik yang diberikan. Jika potensial yang diberikan cukup negatif, maka permukaan elektroda akan bermuatan negatif dan sebaliknya. Untuk mengimbangi muatan yang terdapat pada permukaan elektroda tersebut, maka ion-ion dalam larutan yang memiliki muatan berlawanan dengan muatan elektroda akan tertarik ke permukaan elektroda membentuk permukaan *Helmholtz*. Pasangan muatan pada permukaan *Helmholtz* ini membentuk suatu lapisan yang disebut lapis rangkap listrik.



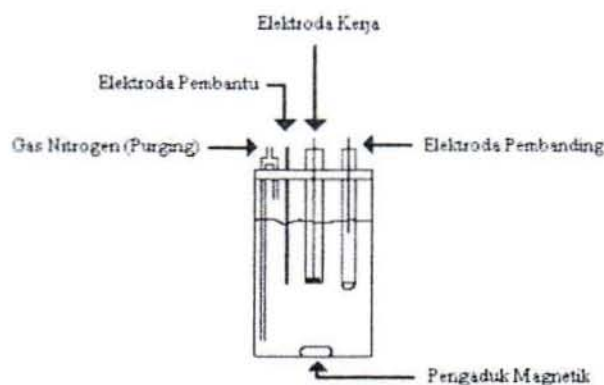
Gambar 2.12 Lapis rangkap listrik (Harvey, 2000)

Ketika potensial elektroda mencapai potensial dekomposisi dari ion analit, maka ion-ion analit yang terdapat pada permukaan *Helmholtz* akan tereduksi. Akibatnya konsentrasi ion-ion analit pada permukaan *Helmholtz* akan berkurang. Untuk menutupi kekurangan ion-ion analit pada permukaan *Helmholtz* maka ion-ion analit yang terdapat dalam larutan akan berdifusi menuju permukaan elektroda. Aliran ion-ion ini akan menghasilkan arus difusi, dimana arus difusi sangat bergantung pada konsentrasi ion-ion analit yang terdapat dalam larutan. Selain arus difusi, terdapat dua arus lain yang juga dihasilkan pada metoda voltametri yaitu arus migrasi dan arus konveksi.

Arus migrasi adalah arus yang timbul akibat gaya tarik elektrostatis antara elektroda dengan ion-ion dalam larutan. Arus konveksi adalah arus yang timbul akibat gerakan fisik, seperti rotasi atau vibrasi elektroda dan perbedaan rapat masa. Karena informasi yang dibutuhkan dalam pengukuran dengan metode ini adalah informasi mengenai konsentrasi analit, maka keberadaan arus migrasi dan konveksi harus diminimalisasi agar tidak menimbulkan gangguan dalam pengukuran. Arus konveksi diminimalisasi dengan tidak melakukan pengadukan sesaat sebelum pengukuran, untuk mempertahankan dan menjaga agar temperatur larutan yang diukur tetap, sedangkan arus migrasi diminimalisasi dengan cara penambahan larutan elektrolit pendukung (Ayu, Putri, & Surabaya, 2013).

Pengukuran voltametri menggunakan tiga jenis elektroda yaitu elektroda kerja, elektroda pembanding dan elektroda pendukung. Prinsip dasar dari voltametri adalah dengan memberikan potensial tetap pada

elektroda kerja dan mengamati perubahan arus yang terjadi sebagai fungsi potensial (Fatih, Spardi, & Si, 2016).



Gambar 2.13 Diagram sel voltametri (Fatih *et al.*, 2016)

Elektroda kerja adalah tempat terjadinya reaksi oksidasi-reduksi dari analit. Elektroda pembanding adalah elektroda yang potensialnya diketahui dan bernilai tetap. Potensial elektroda pembanding tidak dipengaruhi oleh komposisi sampel. Elektroda pembanding yang umum digunakan antara lain adalah elektroda kalomel kenuh (EKJ) atau Ag/AgCl. Elektroda pembantu yaitu elektroda yang digunakan untuk mengalirkan sebagian besar arus yang timbul pada proses pengukuran. Elektroda pembantu yang biasa digunakan adalah kawat platina yang bersifat inert (Fatih *et al.*, 2016).

2.5.1 Teknik Voltametri

Ada beberapa teknik voltametri yang dapat digunakan dalam analisis suatu sampel, antara lain voltametri pulsa dan voltametri lucutan. Voltametri pulsa meliputi voltametri pulsa normal, voltametri pulsa diferensial, dan voltametri gelombang persegi. Voltametri lucutan meliputi voltametri lucutan anodik, katodik, dan adsorptif.

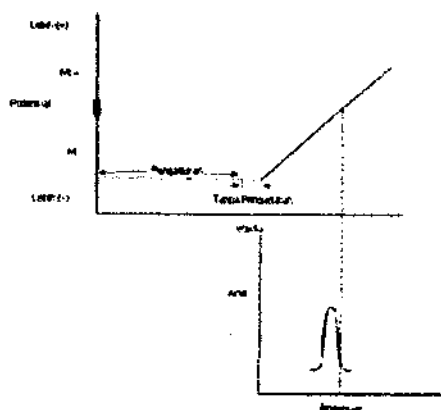
a. Voltametri lucutan

Teknik lucutan merupakan teknik analisis voltametri yang sensitif untuk penentuan logam dalam jumlah renik. Teknik voltametri lucutan anodik terdiri dari 2 tahap reaksi yaitu tahap pengaturan potensial dan tahap *scanning potensial*. Pada tahap pertama, dilakukan deposisi analit pada permukaan elektroda kerja. Tahap ini disebut juga tahap prekonsentrasi. Analit-analit tersebut di pra-konsentrasikan melalui proses elektrodeposisi katoda dalam rentang waktu dan potensial tertentu yang pada umumnya menggunakan elektroda raksa. Potensial deposisi yang digunakan biasanya 0.3-0.5V lebih negatif dibandingkan nilai E^0 . Ion-ion logam mencapai elektroda secara difusi (akibat adanya gradien konsentrasi) maupun konveksi (akibat pengadukan larutan) sambil direduksi dan terkonsentrasi di permukaan elektroda menurut reaksi $M^{n+} + ne^- \longrightarrow M$.

Untuk meningkatkan jumlah analit yang terdeposisi maka larutan dapat diaduk atau pengukuran dilakukan dengan menggunakan elektroda yang berputar. Lamanya waktu deposisi ditentukan oleh tingkat konsentrasi ion analit. Makin kecil konsentrasinya makin lama waktu yang dibutuhkan untuk deposisi. Pengadukan dihentikan saat sebelum dilakukan *scanning potensial* untuk meminimalkan arus konveksi.

Tahap kedua adalah tahap *scanning potensial* yang dilakukan dari potensial yang lebih negatif menuju potensial yang lebih positif. Ketika potensial bergerak menuju potensial yang lebih positif, analit yang

terdeposisi pada permukaan elektroda akan larut kembali ke dalam larutan sebagai bentuk dari reaksi oksidasi.



Gambar 2.14 Potensial signal eksitasi dan voltomogram untuk teknik voltametri lucutan anodik (Fatih *et al.*, 2016)

Analisis menggunakan voltametri lucutan katodik pada dasarnya sama dengan teknik voltametri lucutan anodik, kecuali dua hal yaitu tahap deposisi yang terjadi pada voltametri lucutan katodik merupakan tahap oksidasi. Kedua, aliran potensial yang terjadi pada saat pembacaan terjadi dari potensial yang lebih positif menuju potensial yang lebih negatif, reaksi yang terjadi pada permukaan elektroda adalah reaksi reduksi analit sehingga analit akan kembali larut.

Dalam voltametri adsorptif tahap deposisi terjadi tanpa proses elektrolisis. Analit akan teradsorpsi menuju permukaan elektroda. Ketika deposisi telah selesai, pengukuran dapat dilakukan secara anodik ataupun katodik tergantung dari proses lucutan yang terjadi pada analit apakah reduksi atau oksidasi.

Kombinasi dari tahap prakonsentrasi dan pengukuran elektrokimia dari akumulasi analit pada permukaan elektroda menyebabkan teknik

lucutan menjadi teknik elektrokimia yang paling sensitif sehingga mampu memberikan sensitivitas yang cukup tinggi untuk pengukuran kadar logam dalam orde konsentrasi yang sangat kecil (ppb).

2.6 Nanopartikel Magnetik ($M_nFe_2O_4$) Berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* Tertarget Reseptor Folat Sebagai *Delivery System*

Dalam sistem penghantaran obat (DDS) obat secara langsung menuju pada sel target, sehingga pengaruhnya pada jaringan vital dapat diminimalkan. Selain itu, DDS dapat melindungi obat dari proses degradasi atau *clearance* yang cepat dalam sirkulasi, oleh karena itu dosis yang digunakan akan lebih rendah (Chomoucka *et al.*, 2010). Perkembangan terkini dalam nanoteknologi telah menunjukkan bahwa nanopartikel memiliki potensi besar sebagai media penghantar obat karena ukuran yang kecil, struktur nano menunjukkan fisikokimia dan sifat biologis yang unik (Wilczewska, Niemirowicz, Markiewicz, & Car, 2012).

Perbedaan karakteristik sel kanker dan sel sehat yaitu keadaan kebocoran vaskularisasi serta tingkat keasaman di lingkungan sel kanker menjadikan Nanopartikel Magnetik yang berukuran antara 1-1000 nanometer dapat dengan mudah masuk ke dalam sel kanker sehingga dapat meminimalisir tingkat toksisitas dari pengobatan kemoterapi, karena pemberian dosis dilakukan dengan lebih rendah tetapi lebih tepat sasaran (Maeng *et al.*, 2010). Selain itu, seperti pada jurnal yang ditulis oleh *Kunio Murishigo* tahun 2011 dijelaskan bahwa MNPs yang dilarutkan dalam air terbukti menghasilkan MNPs yang kurang baik dan tidak homogen antar partikel, sedangkan MNPs dengan menggunakan pelarut BSA (*Bovine*

Serum Albumin) dapat menghasilkan MNPs yang baik serta homogen antar partikel dan memiliki sifat hidrofobik sehingga dapat dengan mudah menyatu dengan komponen di dalam pembuluh darah. *Human Serum Albumin (HSA)* merupakan jenis terbaik untuk menghasilkan karakteristik MNPs yang homogen dan memiliki kepolaran tinggi di dalam tubuh.

Dalam berbagai penelitian lainnya, MNPs sebagai *delivery system* banyak dikembangkan dengan menggunakan reseptor salah satu yang terbaik adalah menggunakan asam folat. Selektivitas folat pada tumor secara *in vivo* telah dikembangkan pada tikus yang menderita tumor menggunakan berat molekul folat terkait radiofarmasi yang rendah. Bahkan, setelah pemeriksaan radioimaging beberapa generasi agen berbasis folat larut dalam air. *Dietilenatriamina asam pentaacetat (DTPA)-folate* dan folat konjugat berbasis Tc (EC20, *Endocyte*, *West Lafayette*), merupakan jenis folat yang memenuhi syarat untuk dilakukan uji klinis pada manusia. Akurasi dan deteksi sensitivitas dari folat terhadap sel kanker menggunakan agen pencitraan mendapatkan hasil yang baik, karena hanya terdapat sedikit serapan pada organ lain yaitu pada ginjal dan hati yang pernah diamati pada pasien dengan tumor jinak.

Penyerapan pada ginjal dapat terjadi karena FR pada membran apikal tubulus proksimal (agen pencitraan berat molekul rendah dengan cepat diekskresikan ke dalam urin di mana mereka dapat dengan mudah mengakses FR ginjal). Sementara pada organ hati tidak ditemukan serapan FR pada sebagian kecil dari pasien (Lu & Low, 2012).

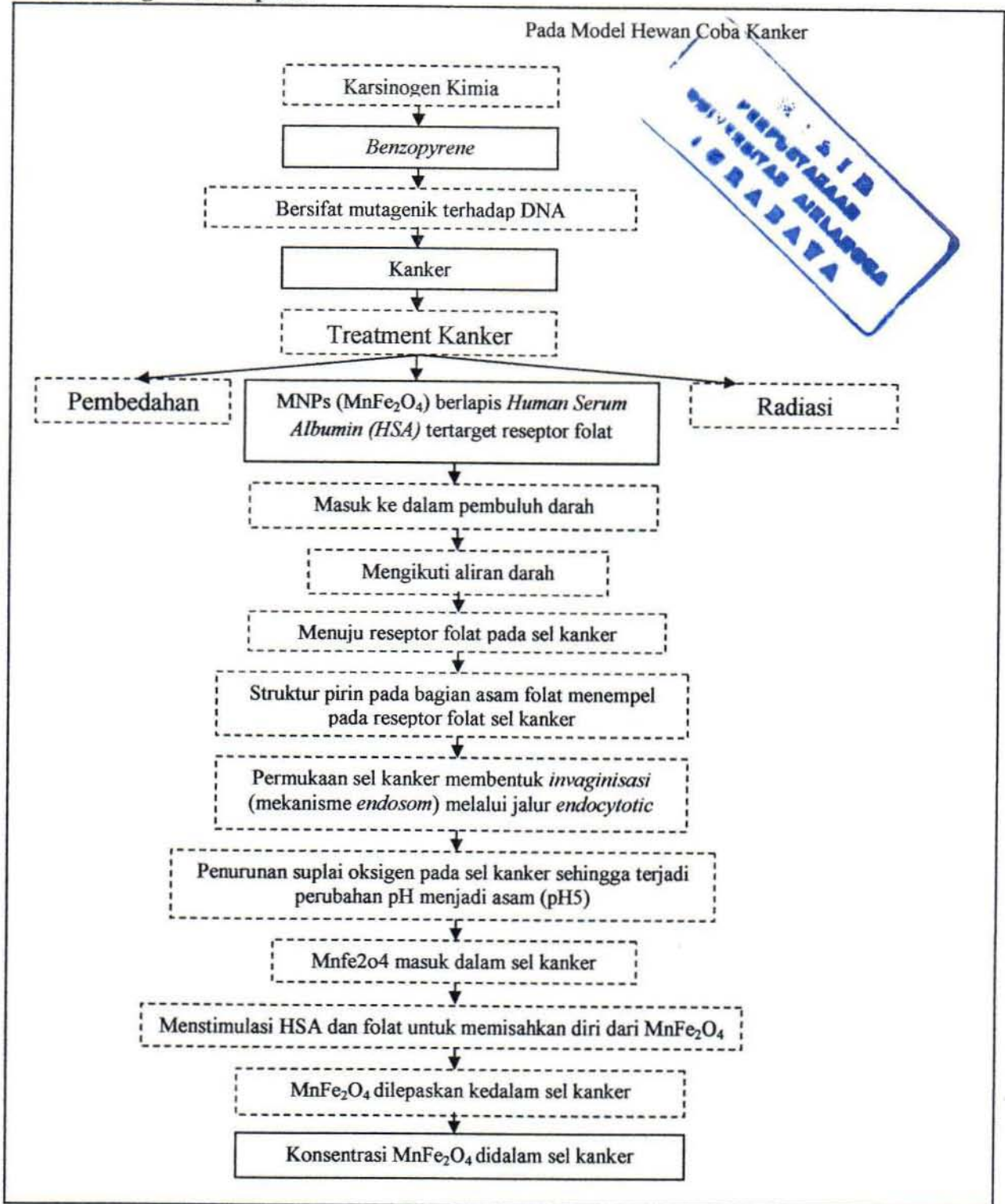
BAB 3

**KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN**

BAB 3

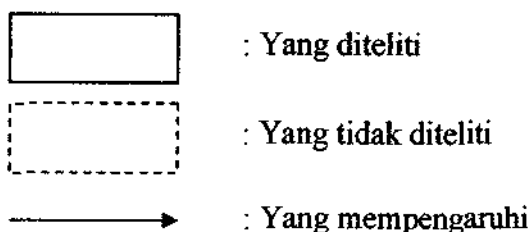
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

Keterangan :



Faktor penyebab terjadinya kanker masih belum diketahui secara pasti, akan tetapi terdapat beberapa faktor resiko yang memiliki peran cukup besar dalam terbentuknya sel kanker salah satunya adalah agen karsinogenik yang dapat berasal dari pemakaian beberapa bahan kimia seperti *benzopyrene*. Bahan kimia yang bersifat mutagenik tersebut akan bekerja dengan merubah struktur DNA sel tubuh sehingga sel akan bermutasi secara tidak terkendali dan terbentuklah sel kanker. Dalam pengembangannya terdapat beberapa *treatment* untuk mengatasi kanker antara lain melalui tindakan operatif, radiasi dan kemoterapi. Terapi kemoterapi merupakan salah satu jenis terapi yang paling banyak digunakan, terapi ini dilakukan dengan memasukkan beberapa agen anti kanker ke dalam pembuluh darah dengan tujuan untuk merusak proses pembentukan sel kanker pada berbagai fase di dalam tubuh.

Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) yang dijadikan sebagai inti sel (*core*) dengan berukuran nano menjadikan *delivery system* dapat menembus sel kanker karena memiliki biokompatibilitas yang tinggi dan toksisitas yang rendah. Sedangkan lapisan *Human Serum Albumin (HSA)* dengan sifat kepolarannya yang tinggi dengan kondisi di dalam pembuluh darah berperan sebagai lapisan pelindung.

Dalam prosesnya, MnFe_2O_4 coating HSA tertarget reseptor folat yang diinjeksikan secara intravena akan mengikuti aliran darah dan struktur pirin pada asam folat bekerja dengan cara menempel pada reseptor folat yang dimiliki oleh sel kanker. Selanjutnya, akan terjadi mekanisme *endosom* dimana permukaan membran sel kanker akan membentuk mekanisme *invaginasi* dan memakan MnFe_2O_4 melalui jalur *endocytotic* karena dianggap benda asing. Akibat penurunan suplai O_2 kepada sel kanker akan berpengaruh terhadap lingkungan sel kanker yang menjadi asam (pH 5) sehingga membuat struktur HSA membuka dan menstimulasi pelepasan folat dari MnFe_2O_4 sehingga dapat masuk ke dalam sel kanker. Setelah MnFe_2O_4 berada di dalam sel, maka selanjutnya akan diukur tingkat konsentrasinya di dalam sel kanker untuk menilai efektifitas MNPs sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker.

3.2 Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Press, 2013) dijelaskan bahwa nanopartikel jika diinjeksikan secara intravena akan berdistribusi terhadap sel tumor pada 3, 4, 8, 24, dan 96 jam setelah diinjeksi akan tetapi konsentrasi terbaik terdapat pada 24 jam setelah dilakukan injeksi dengan konsentrasi 52%. Berdasarkan hal tersebut, maka nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat disebut memiliki efektifitas yang baik sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar* jika konsentrasi yang ditemukan di dalam sel kanker $\geq 52\%$.

BAB 4
MATERI DAN METODE
PENELITIAN

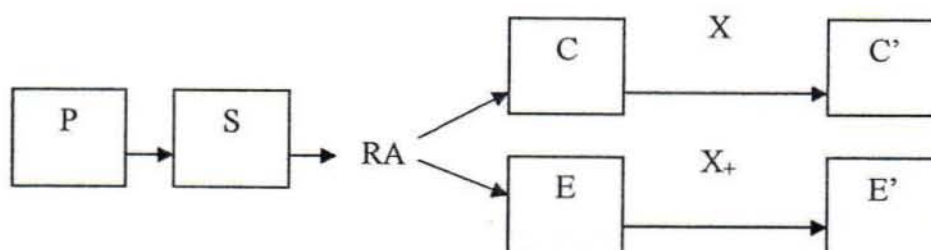


BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true-experiment* dengan rancangan *post-test only control group* yaitu perlakuan dikenakan pada suatu kelompok unit eksperimen tertentu kemudian dilakukan pengukuran terhadap variabel dependen (tanpa *pretest*) (Wijono., 2008).



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

P : Populasi tikus strain wistar yang mengalami kanker

S : Sampel tikus strain wistar yang mengalami kanker

RA: *Random alokasi*

C : Kelompok tikus yang mengalami kanker sebagai kontrol positif (di berikan injeksi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat).

E : Kelompok tikus yang mengalami kanker sebagai kelompok intervensi (di berikan injeksi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat).

X : Diinjeksi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat.

X₊ : Diinjeksi Nanopartikel Magnetik (MnFe₂O₄) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat.

C': Observasi konsentrasi MnFe₂O₄ di dalam sel kanker tikus *strain wistar* kelompok kontrol positif.

E': Observasi konsentrasi MnFe₂O₄ di dalam sel kanker tikus *strain wistar* kelompok intervensi.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Besar sampel

Besar sampel dihitung menggunakan rumus *Frederer* (1963) dalam *Firdaus* (2013) sebagai berikut $t(n-1) \geq 15$.

Keterangan :

t = banyaknya kelompok perlakuan

n = jumlah sampel setiap kelompok

Penentuan besarnya sampel penelitian yang digunakan oleh peneliti mengacu pada rumus di atas, sehingga besarnya sampel penelitian adalah :

$$t(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

$$n = 9$$

Pada penelitian eksperimen, untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen dilakukan koreksi dengan $1/(1-f)$, dimana f adalah proporsi unit

eksperimen yang hilang atau mengundurkan diri atau *dropout* dengan rumus sebagai berikut : $K_n = \frac{1}{1-f} \times n$

$$\begin{aligned}K_n &= \frac{1}{1-f} \\&= \frac{1}{1-0,1} \\&= \frac{1}{0,9} \times 9 \\&= 9,9 \\&= 10\end{aligned}$$

Jadi hasil besarnya sampel penelitian adalah 20 dengan pembagian pada tiap kelompok perlakuan yang digunakan adalah 10 ekor tikus.

4.2.2 Kriteria sampel

Sampel adalah bagian dari populasi dan dapat dianggap sebagai sub himpunan dari populasi (Kuntoro., 2010). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus strain wistars*) yang memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi :

- 1) Jenis kelamin betina.
- 2) Usia ± 12 minggu.
- 3) Berat badan 200-250gram.

b. Kriteria Eksklusi :

- 1) Tikus tampak sakit selama masa adaptasi (gerakan tidak aktif, tingkah laku tidak normal).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel independen

Variabel independen merupakan variabel yang nilainya menentukan variabel lain (Kuntoro., 2010). Variabel independen dalam penelitian ini adalah adalah : Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat.

4.3.2 Variabel dependen

Variabel dependen merupakan variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena variabel bebas (Kuntoro., 2010). Variabel ini juga disebut dengan variabel efek. Variabel dependen dalam penelitian ini adalah media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

4.3.3 Variabel kendali

Variabel kendali atau kontrol adalah variabel yang nilainya dikendalikan dalam penelitian (baik seluruhnya atau sebagian saja) (Nursalam., 2008). Pada penelitian ini yang menjadi variabel kendali adalah:

1. Tikus ditempatkan pada suhu ruang $\pm 21^\circ C$.
2. Tikus ditempatkan pada kandang individu ukuran 40x60cm.
3. Injeksi *benzopyrene* 0,3ml/ekor/hari secara subcutan.
4. Injeksi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat sebanyak 1 cc.
5. Injeksi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat sebanyak 1 cc.
6. Dilakukan injeksi secara intravena melalui ekor.

7. Tikus di dekapitasi pada hari ke-61.
8. Pengumpulan data konsentrasi MnFe_2O_4 dilakukan 8 jam setelah injeksi.

4.3.4 Definisi operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

| Variabel | Definisi Operasional | Parameter | Skala | Alat Ukur |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------|---------------------------------------|
| V. Independent Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis <i>Human Serum Albumin (HSA)</i> tertarget reseptor folat | Besi (Fe) yang dibentuk menjadi berukuran nano dilapisi <i>Human Serum Albumin (HSA)</i> dan menggunakan reseptor berupiasam folat menjadi dalam bentuk koloid yang dimasukkan ke dalam pembuluh darah sebanyak 1 cc secara intravena pada ekor tikus strain wistar. | Ukuran nano 10^{-9}m | Rasio | <i>DLS (Dynamic Light Scattering)</i> |
| V. Dependen: Media <i>delivery system</i> terhadap sel kanker tikus strain wistar. | Konsentrasi MnFe_2O_4 di dalam sel kanker tikus putih (<i>Rattus norvegicus starin wistar</i>). | ppm | Rasio | Analisis Volta. |

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian antara lain Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat, Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat, minyak zaitun, *benzopyrene* 100ml, *kentamine*, heksana teknis 2 liter, asam nitrat dan asam perklorat.

4.5 Instrumen penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *DLS (Dynamic Light Scattering)*, *Voltametri* dan *ultraviolet (UV)*.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dan pengumpulan data pada penelitian ini akan dilaksanakan selama 3 bulan pada bulan Juni-September tahun 2016 di Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, dan Laboratorium Kimia Universitas Negeri Surabaya.

4.7 Prosedur Pengumpulan Data

4.7.1 Tahap aklimatisasi

Aklimatisasi bertujuan agar hewan uji beradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama penelitian. Pada tahap ini sejumlah 20 ekor tikus putih (*Rattus Norvegicus strain wistar*) betina dipelihara dalam kandang individu (40x60 cm) dalam kondisi laboratorium selama 3 hari, diberi pakan dan minum standar secukupnya.

4.7.2 Tahap pelaksanaan

a. Prosedur induksi sel kanker

- 1) Larutkan serbuk *benzopyrene* ke dalam larutan minyak zaitun dengan perbandingan 1:1 (1mg larutan *benzopyrene*: 1 ml minyak zaitun).
- 2) Desinfeksi area sekitar payudara tikus.
- 3) Injeksi *benzopyrene* 0,3ml/ kgBB/ 2x seminggu secara subcutan pada area sekitar payudara selama 4 minggu (30 hari) (Ira Arundina., 2008).
- 4) Tikus didiamkan sampai hari ke-60.

b. Prosedur pelaksanaan

1. Sterilisasi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) menggunakan *ultraviolet* (UV) kemudian di tutup dengan menggunakan aluminium foil.
2. Desinfeksi area sekitar ekor tikus.
3. Kelompok C : tikus diberikan injeksi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat sebanyak 1 cc secara intravena pada bagian ekor.
4. Kelompok E : tikus diberikan injeksi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat sebanyak 1 cc secara intravena pada bagian ekor (Tabaga, 2015).

c. Prosedur pemeriksaan

a. Tahap persiapan pemeriksaan volta

- 1) Pada akhir penelitian tikus diinjeksi *kentamine* secara subcutan pada bagian paha kemudian di dekapitasi.
- 2) Area sekitar kanker tikus dibersihkan kemudian didesinfeksi.
- 3) Tikus di insisi pada daerah sekitar kanker menggunakan mesk.
- 4) Jaringan sel kanker pada tikus di ambil.
- 5) Jaringan sel kanker direndam dalam larutan formalin *buffer* 10 % selama 18 – 24 jam.
- 6) Jaringan kemudian dipanaskan selama 2 jam pada suhu $108^{\circ}C$ untuk menghilangkan larutan formalin.

- 7) Jaringan kemudian ditimbang hingga diperoleh sampel sebesar 0,5gr.
- 8) Jaringan tersebut kemudian diletakkan di dalam gelas beker dan diberikan larutan asam nitrat dan asam perklorat dengan perbandingan 3 : 2 vol/vol (3ml asam nitrat : 2 asam perklorat).
- 9) Hasil tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 250^o C selama 15 menit dibawah ruangan asam (Hilger *et al.*, 2002).
- 10) Sampel kemudian dicampurkan dengan aqua DM hingga mencapai 20ml.
- 11) Diukur menggunakan *Voltametri*.

4.7.3 Tahap pengumpulan data

Observasi konsentrasi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat pada sel kanker dilakukan pada hari ke-61 menggunakan *Voltametri*. Hal tersebut dilakukan dengan membuat preparasi jaringan untuk di destruksi kemudian membuat standar tetapan persamaan Mn dengan konsentrai 1, 2, 4, dan 8 ppm. Untuk menilai efektifitas $MnFe_2O_4$ tertarget dan non-target reseptor folat sebagai *media delivery system* terhadap sel kanker dilakukan dengan cara melihat adanya perbedaan nilai konsentrasi di dalam sel dengan konsentrasi $MnFe_2O_4$ induk.

Sedangkan untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok, dilakukan dengan membandingkan konsentrasi $MnFe_2O_4$ tertarget reseptor folat di dalam sel kanker dengan konsentrasi $MnFe_2O_4$ non-target reseptor folat di dalam sel kanker.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

4.8.1 Analisis data

Data diolah dengan menggunakan uji statistik dan disajikan dalam bentuk tabulasi data.

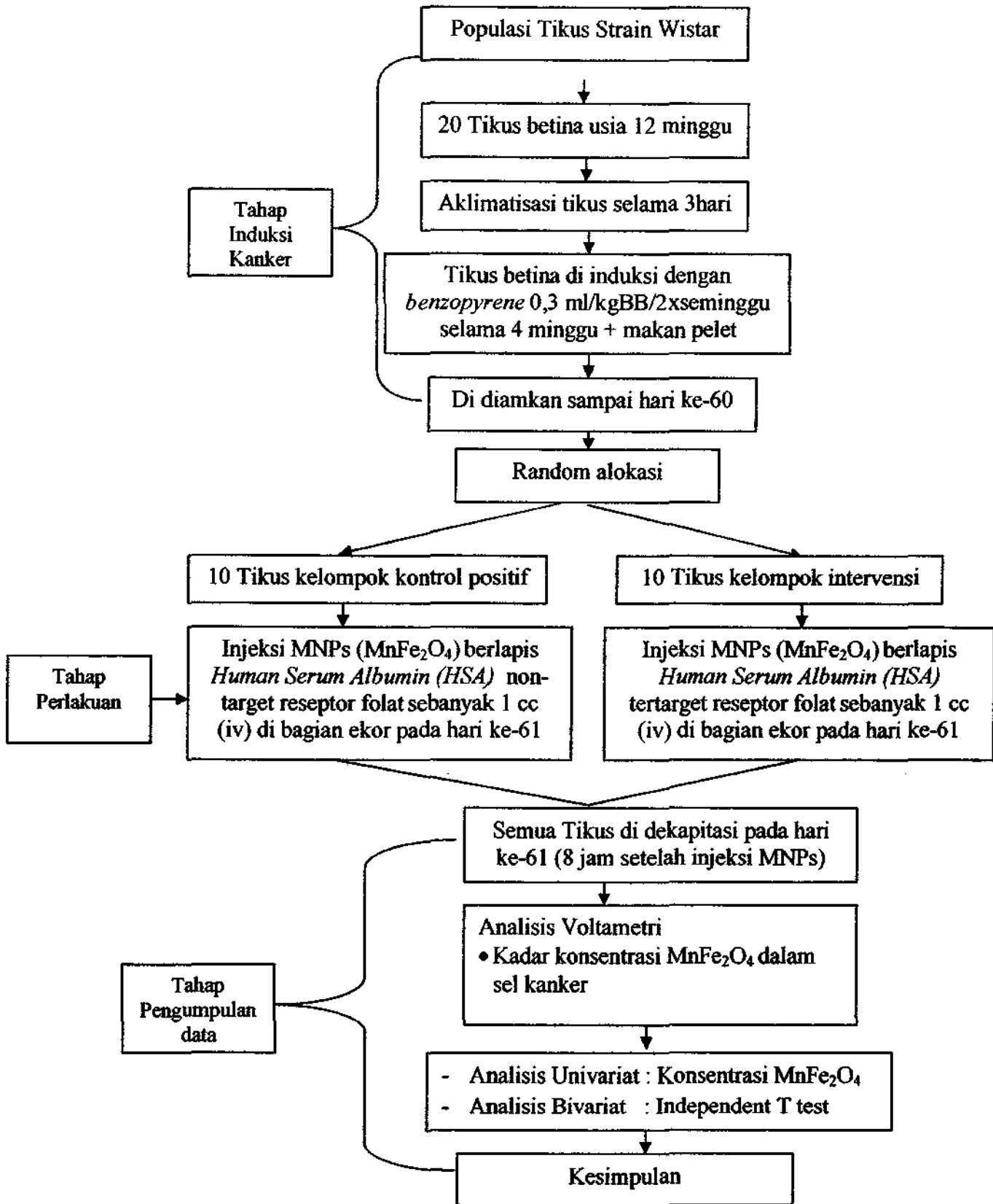
a. Analisa univariat

Analisa univariat bertujuan untuk menjelaskan dan mendeskripsikan konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

b. Analisis bivariat

Analisa bivariat digunakan untuk melihat efektifitas Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*. Untuk menganalisis variabel tersebut kemudian dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji T 2 sampel bebas dengan tingkat kemaknaan $\alpha=0,05$ untuk mengidentifikasi perbedaan konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget dan non-target reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

4.9 Kerangka Kerja



Gambar 4.2 Kerangka Kerja

BAB 5
ANALISIS HASIL PENELITIAN



BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Data Penelitian

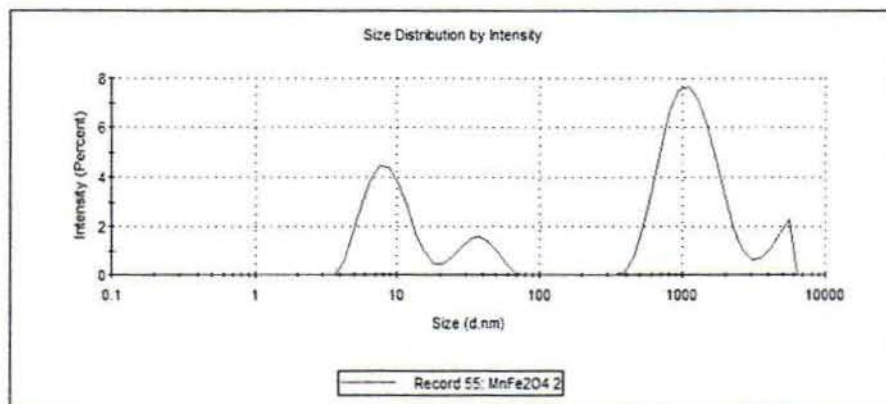
5.1.1 Hasil karakterisasi *Dynamic Light Scattering (DLS)*

Karakterisasi menggunakan instrumen *Dynamic Light Scattering (DLS)* merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur diameter partikel yang terbentuk. Hasil karakterisasi senyawa menggunakan instrumen *Dynamic Light Scattering (DLS)* berupa grafik intensitas ukuran partikel. Sampel yang dikarakterisasi menggunakan *Dynamic Light Scattering (DLS)* adalah nanopartikel magnetik MnFe_2O_4 , dan nanopartikel magnetik MnFe_2O_4 berlapis *Human Serum Albumin (HSA)*.

1) Karakterisasi nanopartikel magnetik MnFe_2O_4

| | Size (d.nm): | % Intensity: | St Dev (d.nm): |
|-------------------------|---------------|--------------|----------------|
| Z-Average (d.nm): 181.3 | Peak 1: 1203 | 58.0 | 522.3 |
| Pdl: 0.757 | Peak 2: 9,010 | 27.5 | 3,350 |
| Intercept: 0.496 | Peak 3: 37,38 | 8.2 | 10.25 |

Result quality : Refer to quality report



Gambar 5.1 Hasil Karakterisasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) menggunakan *Dynamic Light Scattering (DLS)*

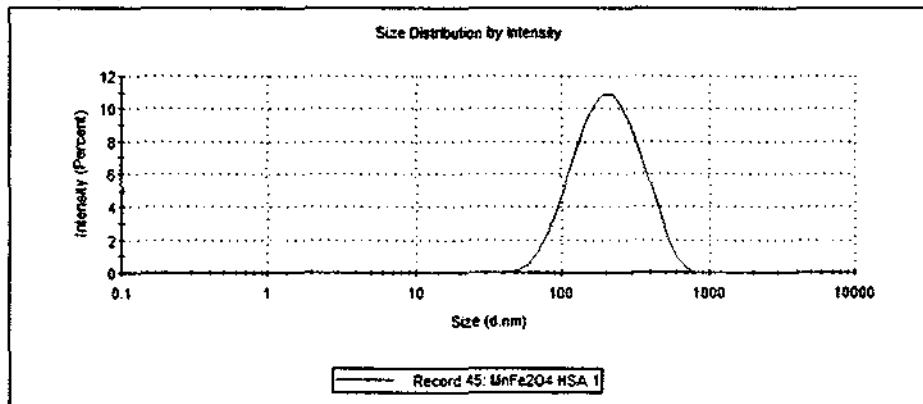
Berdasarkan gambar 5.1 terdapat tiga peak yang menunjukkan distribusi ukuran partikel MnFe_2O_4 . Pada peak pertama sebesar

1203nm memiliki intensitas sebanyak 58%, peak kedua sebesar 9,010nm memiliki intensitas sebanyak 27,5%, dan peak ketiga sebesar 37,38nm memiliki intensitas sebanyak 8,2%.

Sintesis nanopartikel magnetik MnFe_2O_4 tersebut dikatakan berhasil karena rata-rata ukuran yang terbentuk sebesar 181,3nm dimana ukuran tersebut masuk dalam rentang suatu senyawa dikatakan sebagai nanopartikel sesuai dengan yang dikatakan oleh Mohanra dan Chen, (2006) bahwa suatu partikel yang memiliki ukuran sekitar 1-500nm dapat dikatakan sebagai nanopartikel.

2) Karakterisasi nanopartikel magnetik MnFe_2O_4 berlapis HSA

| | Size (d.nm): | % Intensity: | St Dev (d.nm): |
|-------------------------|---------------|--------------|----------------|
| Z-Average (d.nm): 184.5 | Peak 1: 227.3 | 100.0 | 114.5 |
| Pdi: 0.214 | Peak 2: 0.000 | 0.0 | 0.000 |
| Intercept: 0.936 | Peak 3: 0.000 | 0.0 | 0.000 |
| Result quality : Good | | | |



Gambar 5.2 Hasil Karakterisasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* menggunakan *Dynamic Light Scattering (DLS)*

Berdasarkan gambar 5.2 diperoleh hasil bahwa ukuran partikel yang ada di dalam larutan *Human Serum Albumin (HSA)* pada peak pertama sebesar 227,3nm memiliki intensitas sebanyak 100%. Sintesis nanopartikel magnetik MnFe_2O_4 berlapis *Human Serum Albumin (HSA)*

tersebut dikatakan berhasil karena rata-rata ukuran yang terbentuk sebesar 184,5nm dimana ukuran tersebut masuk dalam rentang suatu senyawa dikatakan sebagai nanopartikel sesuai dengan yang dikatakan oleh Mohanra dan Chen, (2006) bahwa suatu partikel yang memiliki ukuran sekitar 1-500nm dapat dikatakan sebagai nanopartikel.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Fahmi *et al.*, 2014) dijelaskan bahwa perbandingan konsentrasi *Bovine Serum Albumin (BSA)* dengan senyawa aktif dapat memberi pengaruh terhadap ukuran partikel yang terbentuk, semakin besar konsentrasi BSA yang digunakan dalam pencampuran, maka nanopartikel yang terbentuk akan semakin kecil. Hal tersebut juga berlaku pada perbandingan konsentrasi menggunakan *Human Serum Albumin (HSA)* terhadap ukuran partikel yang terbentuk dari suatu senyawa aktif.

5.1.2 Analisis voltametri

1. Cara pengukuran voltametri

a. Pembuatan larutan standar $MnCl^{2+}$

Larutan standar $MnCl^{2+}$ di buat dengan konsentrasi 1, 2, 4, dan 8 ppm. Pertama, dilakukan dengan cara menimbang 2mg $MnCl^{2+}$ dan dilarutkan dalam 100ml Aquades sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 20ppm. Kemudian dari konsentrasi 20ppm tersebut, diambil 80ml dan ditambah dengan aquades hingga mencapai 100ml sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 16 ppm.

- 1) 8ppm = 50ml dari 16ppm ditambahkan aquades sampai menjadi 100ml.
- 2) 4ppm = 50ml dari 8ppm ditambahkan aquades sampai menjadi 100ml.
- 3) 2ppm = 50ml dari 4ppm ditambahkan aquades sampai menjadi 100ml.
- 4) 1ppm = 50ml dari 2ppm ditambahkan aquades sampai menjadi 100ml

b. Pembuatan kurva kalibrasi

Setelah larutan standar diperoleh, selanjutnya masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 30-40ml dan dimasukkan kedalam voltameter kemudian dilakukan analisis sampai mendapatkan kurva sumbu Y (arus yang diberikan dalam E-5) dan X (konsentrasi). Dari masing-masing kurva tersebut sumbu dimasukkan ke dalam persamaan linear untuk pembuatan kalibrasi dengan nilai X di isi dari nilai konsentrasi 1, 2, 4, 8ppm sehingga didapatkan persamaan $Y = A + BX$.

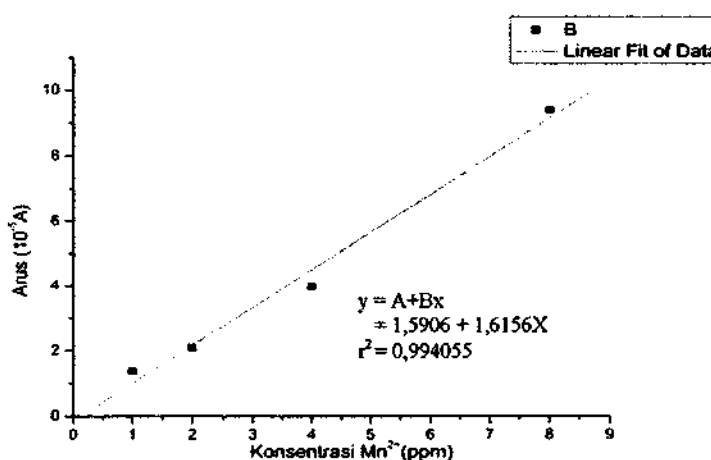
2. Hasil Analisis Voltametri

Untuk mengetahui tingkat konsentrasi nanopartikel magnetik dalam jaringan kanker maka dilakukan pengujian pada sampel induk $MnFe_2O_4$ berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* sebanyak 4ml dan ditemukan konsentrasi sebesar 7,0875ppm/4ml dimana jika dihubungkan dengan jumlah $MnFe_2O_4$ yang di injeksikan ke dalam sel

kanker sebanyak 1cc maka konsentrasi awal MnFe_2O_4 adalah sebesar 0,0070ppm/1cc.

a. Pembuatan Kurva Kalibrasi MnFe_2O_4

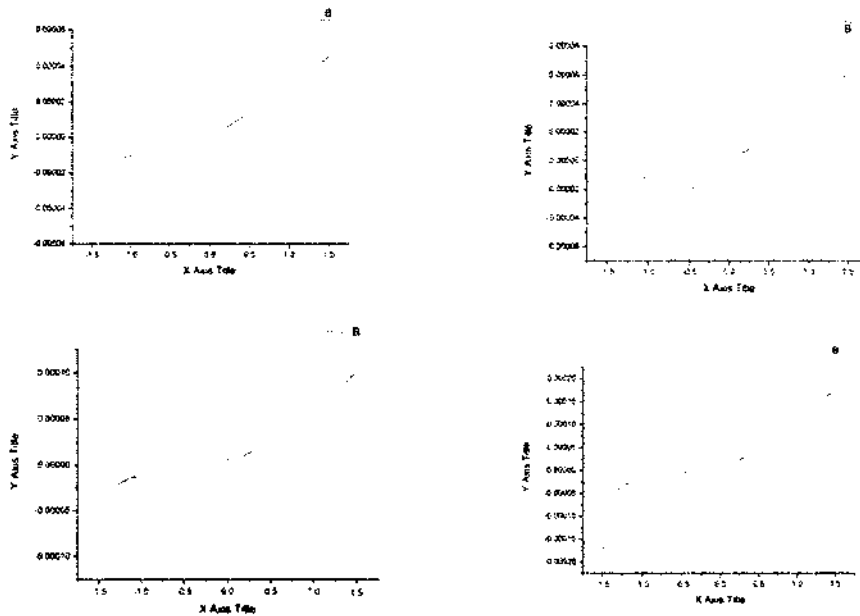
Pembuatan kurva kalibrasi bertujuan untuk menentukan konsentrasi MnFe_2O_4 yang telah terdegradasi secara elektrokimia. Pembuatan kurva larutan Mn dilakukan dengan cara mengukur absorbansi larutan Mn 1, 2, 4, dan 8ppm menggunakan voltametri dengan menggunakan larutan akuades. Data hasil pengukuran larutan MnFe_2O_4 pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada gambar kurva kalibrasi berikut :



Gambar 5.3 Kurva Kalibrasi larutan MnFe_2O_4 yang diukur menggunakan voltametri

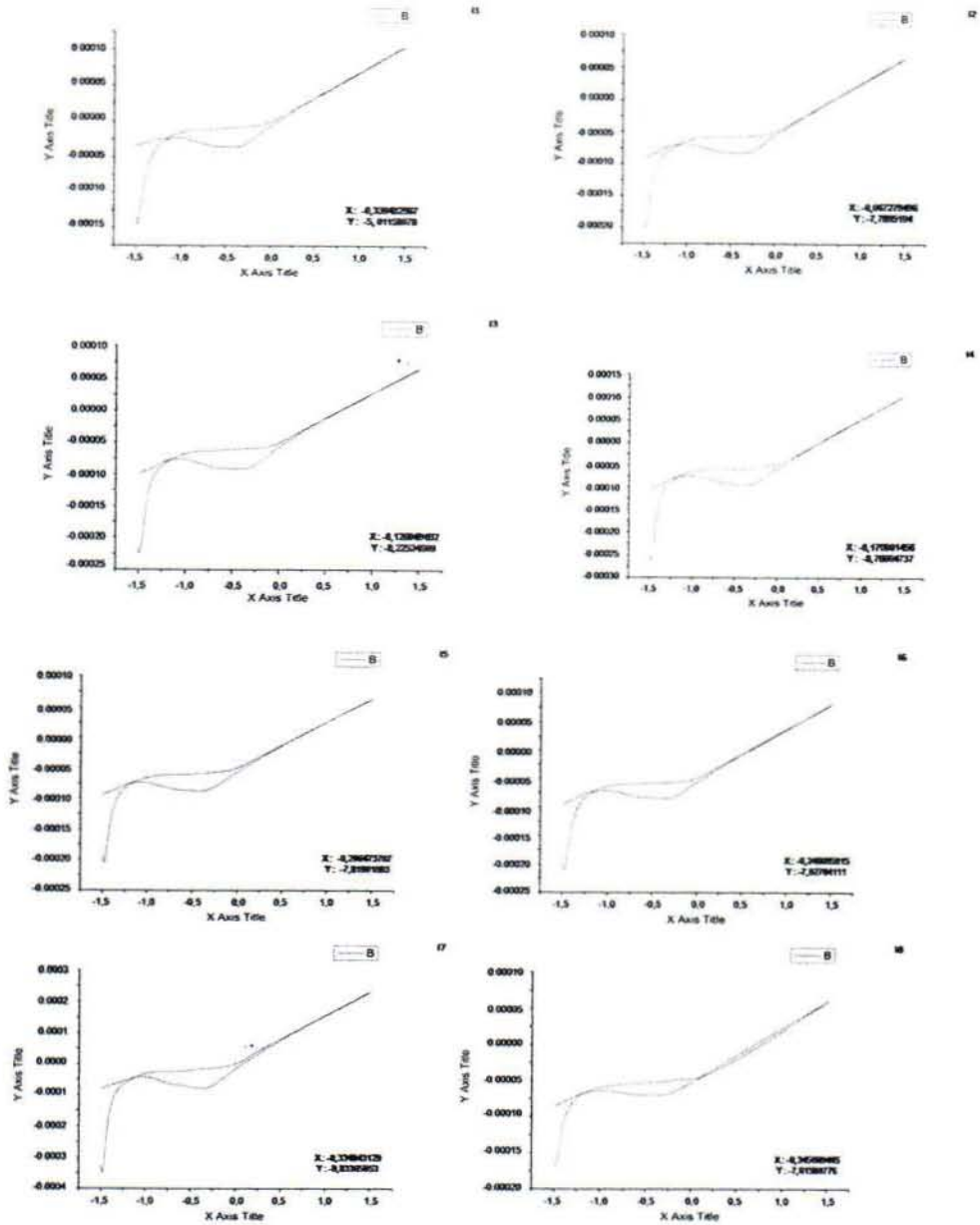
Berdasarkan gambar 5.3 dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi maka nilai absorbansinya akan semakin besar dan diperoleh persamaan regresi $Y = 1,5906 + 1,6156X$. Persamaan regresi tersebut digunakan untuk menentukan konsentrasi larutan MnFe_2O_4 setelah proses degradasi. Berdasarkan standar tersebut diperoleh grafik

Mn pada beberapa konsentrasi (1ppm, 2ppm, 4ppm, dan 8ppm) sebagai berikut :



Gambar 5.4 Grafik Standar Mn pada konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, dan 8 ppm menggunakan voltametri

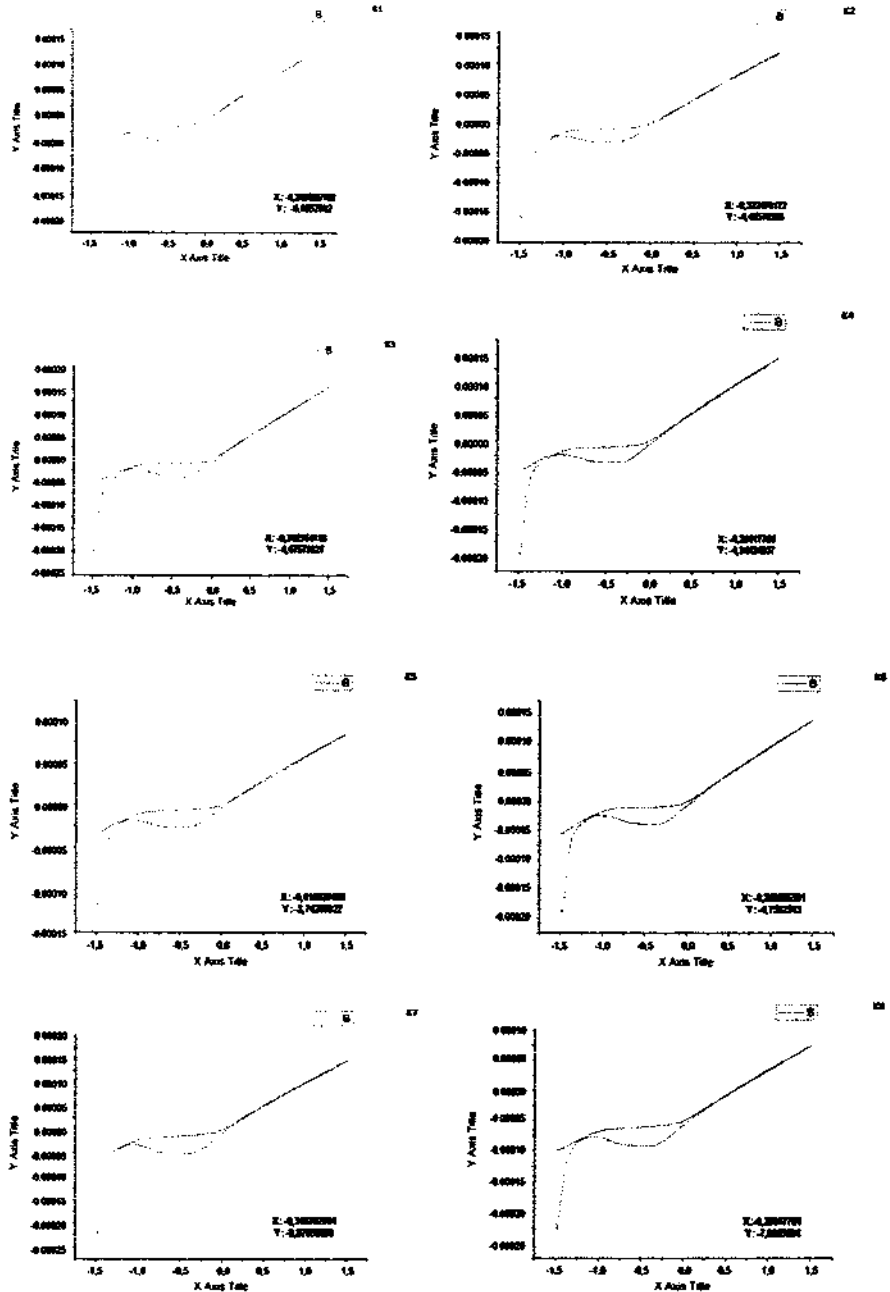
Gambar 5.4 merupakan grafik Mn yang terbentuk pada larutan standar, dimana terdapat dua sumbu yaitu sumbu X dan Y dan ditarik plot sehingga menunjukkan konsentrasi Mn dari suatu larutan. Selanjutnya, pada 16 sampel penelitian tersebut dilakukan 100x pengenceran menggunakan Aqua DM dengan tujuan agar Mn dapat terbaca oleh elektroda yang telah dipasang pada alat voltametri, dan diperoleh hasil sebagai berikut :



Gambar 5.5 Distribusi MnFe_2O_4 pada kelompok yang diberi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat

Berdasarkan gambar 5.5 diperoleh hasil bahwa terdapat konsentrasi MnFe_2O_4 dalam sel kanker kelompok intervensi dengan nilai rata-rata sebesar 0,0038. Hal ini menunjukkan bahwa 54% MnFe_2O_4 yang telah diinjeksikan secara intravena pada tikus strain

wistar sampai pada sel kanker sehingga diperoleh kesimpulan bahwa Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin* (*HSA*) tertarget reseptor folat efektif sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.



Gambar 5.6 Distribusi $MnFe_2O_4$ pada kelompok yang diberi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin* (*HSA*) non-target reseptor folat

Berdasarkan gambar 5.6 diperoleh hasil bahwa terdapat konsentrasi $MnFe_2O_4$ dalam sel kanker kelompok kontrol positif dengan nilai rata-rata sebesar 0,0024. Hal ini menunjukkan bahwa 34% $MnFe_2O_4$ yang telah diinjeksikan secara intravena pada tikus strain wistar sampai pada sel kanker sehingga diperoleh kesimpulan bahwa Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat kurang efektif sebagai *media delivery system* terhadap sel kanker tikus strain wistar.

5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

5.2.1 Hasil uji SPSS

Berdasarkan hasil uji *shapiro wilk* diketahui bahwa *p-value* pada kelompok kontrol positif adalah 0,081 dan pada kelompok intervensi yaitu 0,166. Hal tersebut menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dikarenakan *p-value* > $\alpha=0,05$. Kemudian untuk dilakukan analisis menggunakan uji *independent t-test* maka harus dilihat homogenitas varians dari data tersebut menggunakan *leavens test* dan diperoleh *p-value* sebesar 0,203 hal ini menunjukkan bahwa varians dari data tersebut bersifat homogen dikarenakan nilai *p-value* > $\alpha=0,05$.

Tabel 5.1 Hasil Analisis Uji *Independent T-Test*

| Kelompok | Mean | Median | SD± | P |
|-----------------|--------|--------|--------|-------|
| Intervensi | 0,0038 | 0,0038 | 0,0008 | 0,013 |
| Kontrol Positif | 0,0024 | 0,0019 | 0,0011 | |

Sumber : Data primer hasil uji SPSS

Berdasarkan hasil analisis menggunakan *independent t-test* diperoleh nilai *p-value* sebesar $0,013 < \alpha (0,05)$ hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat dan Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

BAB 6
PEMBAHASAN



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) Berlapis *Human Serum*

Albumin (HSA) Tertarget Reseptor Folat Terhadap Sel Kanker Tikus Strain Wistar.

Berdasarkan hasil analisis voltametri, diketahui bahwa terdapat 54% konsentrasi MnFe_2O_4 yang terdistribusi di dalam sel kanker tikus strain wistar 8 jam setelah di injeksikan sebanyak 1cc MnFe_2O_4 secara intravena, hal tersebut dapat terjadi akibat ukuran MnFe_2O_4 yang bersifat nano (184,5nm) sehingga memungkinkan untuk masuk ke dalam sel melalui adanya kebocoran pembuluh darah pada sel kanker. Nanopartikel juga memiliki kemampuan yang baik untuk menembus bagian interstitial pembuluh darah dari sel kanker dengan waktu retensi lebih tinggi dibandingkan pada sel sehat. Selain itu, pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali senantiasa akan membutuhkan vaskularisasi lebih cepat dan meningkatkan permeabilitas dari vaskular tersebut sehingga dengan mudah dapat di akses oleh nanopartikel. Sebagaimana hasil penelitian yang diungkapkan oleh Hui S Huang tahun 2013, dijelaskan bahwa secara farmakokinetik konsentrasi iron dapat terdeteksi pada sel tumor dalam 8-24 jam pertama setelah di injeksikan secara intravena.

Dalam penelitiannya, (Press, 2013) juga menyebutkan bahwa pada 8 jam setelah dilakukan injeksi nanopartikel sebanyak 1,7gFe/kg secara intravena melalui ekor tikus ditemukan adanya distribusi nanopartikel di dalam sel tumor, sel otot, dan di dalam darah. Sedangkan pada 24 jam setelah injeksi ditemukan adanya distribusi nanopartikel pada organ hati, hal ini

sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Press, 2013) bahwa partikel dengan ukuran 100-1000nm akan dibuang melalui hati, dan limpa. Dalam penelitian lainnya juga disebutkan bahwa partikel berukuran $\pm 100\text{nm}$ sebanyak 60-90% akan dieliminasi melalui organ hati (Chomoucka *et al.*, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa adanya konsentrasi sebesar 54% dari konsentrasi induk yang di injeksikan secara intravena menggambarkan bahwa MnFe_2O_4 berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat efektif untuk dijadikan sebagai *delivery system* terhadap sel kanker sebagaimana dalam penelitian yang dilakukan oleh (Press, 2013) dimana konsentrasi nanopartikel yang teridentifikasi di dalam sel tumor pada 1 jam pertama sebesar 23%, 3 jam sebesar 35%, 8 jam sebesar 35%, 24 jam sebesar 52%, dan 96 jam sebesar 20,58%.

Selain itu, lapisan *Human Serum Albumin (HSA)* juga berperan dalam proses masuknya MnFe_2O_4 kedalam sel kanker, hal tersebut terjadi melalui adanya perbedaan pH antara sel sehat dan sel kanker, dimana tingkat keasaman di lingkungan sel kanker yang tinggi akan mengarahkan MnFe_2O_4 bergerak menuju pada sel kanker (Elzoghby, Samy, & Elgindy, 2012). Adanya perubahan pH asam pada sel kanker yang berada pada pH 5 akan membuat struktur HSA membuka dan menstimulasi pelepasan folat dari MnFe_2O_4 sehingga MnFe_2O_4 dapat masuk ke dalam sel kanker.

Media delivery system menggunakan bahan Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) Berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget Reseptor Folat semakin efektif disertai dengan adanya asam folat sebagai *targeted agent* yang akan bergerak menuju folat reseptor yang ada pada sel kanker. Menurut

penelitian yang dilakukan oleh (Zwicke, Mansoori, & Jeffery, 2012a) dijelaskan bahwa akurasi dan deteksi sensitivitas dari folat terhadap sel kanker menggunakan agen pencitraan mendapatkan hasil yang baik, karena hanya terdapat sedikit serapan folat reseptor pada organ lain yaitu pada ginjal dan hati yang pernah diamati pada pasien dengan tumor jinak.

(Fahmi *et al.*, 2014) dalam penelitiannya juga mengungkapkan bahwa berdasarkan hasil analisis secara mikroskopik konvokal ditemukan nanopartikel magnetik yang dilapisi dengan *bovine serum albumin (BSA)* di dalam sitoplasma sel kanker yang dibiakkan (kultur) secara *in-vitro*. Hal tersebut terjadi akibat adanya konten asam folat sebagai material yang memungkinkan untuk menembus sel membran dan berikatan dengan folat reseptor pada sel kanker.

6.2 Distribusi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* Non-target Reseptor Folat Terhadap Sel Kanker Tikus *Strain Wistar*.

Berdasarkan hasil analisis voltametri, diketahui bahwa terdapat 34% konsentrasi $MnFe_2O_4$ yang ditemukan di dalam sel kanker tikus strain wistar 8 jam setelah di injeksikan sebanyak 1cc $MnFe_2O_4$ secara intravena, hal tersebut dapat terjadi akibat adanya perbedaan karakteristik sel kanker dan sel sehat yaitu keadaan kebocoran vaskularisasi menjadikan Nanopartikel Magnetik berukuran antara 1-1000 nanometer dapat dengan mudah masuk ke dalam sel kanker (Maeng *et al.*, 2010). Dalam penelitian lain, juga diungkapkan bahwa sel kanker memiliki kondisi vaskular yang rapuh karena proses angiogenesis yang tidak sempurna (Wahajuddin & Arora, 2012).

Sebagaimana hasil penelitian yang diungkapkan oleh (Press, 2013), bahwa secara farmakokinetik konsentrasi iron sebesar 1.9 ± 0.3 mg Fe/cc dapat terdeteksi pada 8-24 jam pertama setelah di injeksikan secara intravena. Menurut penelitian lainnya, diungkapkan bahwa nanopartikel dengan ukuran 10-500nm dapat bertahan di dalam sirkulasi dalam beberapa periode waktu jika nanopartikel tersebut di injeksikan secara intravena (Han & Park, 2011). Akan tetapi tingkat konsentrasi pada kelompok kontrol positif dengan Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* Non-target Reseptor Folat tersebut masih kurang efektif untuk dijadikan sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker karena hanya terdapat 34% dari konsentrasi tersebut yang ditemukan di dalam sel kanker.

Selain adanya kebocoran vaskularisasi, lapisan *Human Serum Albumin (HSA)* juga berperan dalam proses masuknya $MnFe_2O_4$, kedalam sel kanker, hal tersebut terjadi melalui adanya perbedaan pH antara sel sehat dan sel kanker, dimana tingkat keasaman di lingkungan sel kanker yang tinggi mengarahkan $MnFe_2O_4$ menuju pada sel kanker (Elzoghby *et al.*, 2012). Dimana adanya perubahan pH asam pada sel kanker yang berada pada pH 5 akan membuat struktur HSA membuka dan menstimulasi pelepasan folat dari $MnFe_2O_4$ sehingga hal ini tetap memungkinkan adanya konsentrasi $MnFe_2O_4$ di dalam sel kanker meski dalam konsentrasi yang sedikit.

6.3 Perbedaan Distribusi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* Tertarget dan Non-target Reseptor Folat Terhadap Sel Kanker Tikus *Strain Wistar*.

Berdasarkan hasil uji *independent t-test*, ditemukan adanya perbedaan konsentrasi antara Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat dan Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat sebagai *media delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

Adanya perbedaan tingkat konsentrasi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* Tertarget dan Non-target Reseptor Folaf yang terdistribusi di dalam sel kanker tersebut terjadi akibat adanya asam folat sebagai *targeted agent* yang akan bergerak menuju folat reseptor yang ada pada sel kanker. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Zwicke, Mansoori, & Jeffery, 2012b) mengungkapkan bahwa akurasi dan deteksi sensitivitas dari folat terhadap sel kanker menggunakan agen pencitraan mendapatkan hasil yang baik, karena hanya terdapat sedikit serapan folat reseptor pada organ lain.

Penelitian yang dilakukan oleh (Lu & Low, 2012) juga mengungkapkan bahwa reseptor folat akan terdistribusi secara normal pada epitel sel sehat dan meningkat pada epitel sel ganas. Reseptor folat juga mengaktifkan terjadinya proses endositosis sehingga Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat dapat dengan mudah masuk kedalam sitoplasma sel. Hal ini memungkinkan agar bahan

menggunakan *targeted agent* berupa asam folat memiliki konsentrasi yang lebih besar di dalam sel kanker.

6.4 Keterbatasan Penelitian

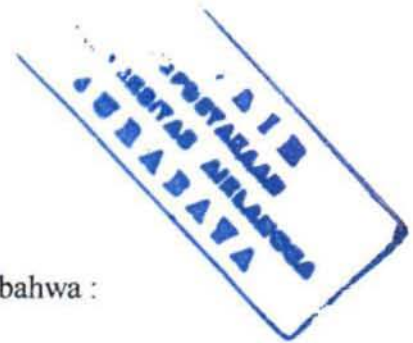
Terdapat beberapa keterbatasan dalam penelitian ini dan diharapkan untuk dapat dikembangkan pada penelitian selanjutnya, antara lain yaitu :

1. Tidak adanya variasi waktu dalam pemberian injeksi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat sehingga belum dapat dibandingkan tingkat konsentrasi di dalam sel kanker secara waktu pemberian.
2. Tidak adanya pemeriksaan secara mikroskopis sehingga tidak dapat menjelaskan sejauh mana distribusi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat dapat masuk kedalam sel kanker.

BAB 7
PENUTUP

BAB 7

PENUTUP



7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan bahwa :

1. Terdapat 54% konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat di dalam sel kanker tikus *strain wistar*.
2. Terdapat 34% konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat di dalam sel kanker tikus *strain wistar*.
3. Terdapat perbedaan konsentrasi Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget dan non-target reseptor folat sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.
4. Bahan Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat efektif untuk dijadikan sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*, sedangkan bahan Nanopartikel Magnetik (MnFe_2O_4) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* non-target reseptor folat kurang efektif untuk dijadikan sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.


7.2 Saran

Pengembangan Nanopartikel Magnetik (MNPs) selanjutnya dalam dunia medis masih dapat dilakukan dalam beberapa aspek, salah satunya dengan mengukur sejauh mana kemampuan *delivery system* tersebut mampu

menembus lapisan sel kanker yang dapat dibuktikan secara mikroskopis sehingga MNPs dapat menjadi salah satu bahan yang sangat ideal untuk dijadikan sebagai media penghantaran obat-obatan kanker. Serta adanya variasi waktu pemberian sehingga dapat diketahui tingkat efektifitas berdasarkan *timing* pemberian terapi.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- 
- Agus Leo Firdaus. (2012). *Pengaruh Ekstrak Etanol Tumbuhan Cayratia Peifolia L (Domin) Terhadap Peningkatan Sel NK dan Limfosit T Sitotoksik (CD8⁺) Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Strain Sprague Dawley Model Kanker.*
- Arundina, I. (2008). *Efek Fraksi n-Heksana : Etil Asetat Artemisia Vulgaris L Terhadap Ekspresi Protein RAS, P53, PCNA, C.MYC dan Apoptosis Pada Sel Mukosa Rongga Mulut yang Mengalami Transformasi Akibat Induksi Benzopirine.*
- Ayu, D., Putri, U., & Surabaya, U. N. (2013). *Pengaruh Pemberian Nano Gold Terhadap Organ Ginjal Mus Musculus Akibat Paparan Merkuri,2(3).*
- Choi, K.-H., Nam, K. C., Kim, H.-J., Min, J., Uhm, H. S., Choi, E. H., Jung, J.-S. (2014). *Synthesis and Characterization of Photo-Functional Magnetic nanoparticles (Fe₃O₄HP) for Applications in Photodynamic Cancer Therapy. Journal of the Korean Physical Society, 65(10), 1658–1662. <https://doi.org/10.3938/jkps.65.1658>*
- Chomoucka, J., Drbohlavova, J., Huska, D., Adam, V., Kizek, R., & Hubalek, J. (2010). *Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering. Pharmacological Research, 62(2), 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.01.014>*
- Elzoghby, A. O., Samy, W. M., & Elgindy, N. A. (2012). *Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems. Journal of Controlled Release, 157(2), 168–182. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.07.031>*
- Fahmi, M. Z. (2014). *Simple Phase Transfer Methods on Providing Water Soluble Nanoparticles for Cancer Cell Detection and Therapeutics, (October).*
- Fahmi, M. Z., Ou, K., Chen, J., Ho, M., Tzing, S., & Chang, J. (2014). *Development of bovine serum albumin-modified hybrid nanoclusters for magneto fluorescence imaging and drug delivery †. RSC Advances, 4, 32762–32772. <https://doi.org/10.1039/C4RA05785F>*

- Fatih, M., Spardi, Z. A. I., & Si, M. (2016). *Sintesis dan Karakterisasi Material Li5FeO4 dengan Polyvindene Fluoride dan Karbon Baterai AA Sebagai katoda Baterai li-Ion*
- Han, Y., & Park, K. (2011). *Targeted drug delivery to tumors : Myths , reality and possibility. Journal of Controlled Release, 153(3), 198–205.*
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.06.001>
- Harvey. (2000). *Analisis Voltametri.*
- Hilger, I., Hiergeist, R., Hergt, R., Winnefeld, K., Schubert, H., & Kaiser, W. a. (2002). *Thermal ablation of tumors using magnetic nanoparticles: an in vivo feasibility study. Investigative Radiology, 37(10), 580–586.*
<https://doi.org/10.1097/01.RLI.0000028491.19254.EE>
- Kementrian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan. (2015). *Stop Kanker. Infodatin-Kanker*, hal 3.
- Kragh-Hansen, U. (2013). *Molecular and practical aspects of the enzymatic properties of human serum albumin and of albumin-ligand complexes. Biochimica et Biophysica Acta, 1830(12), 5535–44.*
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.03.015>
- Kuntoro, Aji. 2010. *Metode Samplig dan Penentuan Besar Sampel.* Surabaya :Pustaka Melati
- Larrea, A., Sebastian, V., Arruebo, M., & Santamaria, J. (2015). *Microfluidic Continuous Approaches to Produce Magnetic Nanoparticles with Homogeneous Size Distribution, 9(7), 593–599.*
- Ling, D., Lee, N., & Hyeon, T. (2015). *Chemical synthesis and assembly of uniformly sized iron oxide nanoparticles for medical applications. Accounts of Chemical Research, 48(5), 1276–1285.*
<https://doi.org/10.1021/acs.accounts.5b00038>
- Lu, Y., & Low, P. S. (2012). *Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents. Advanced Drug Delivery Reviews, 64(SUPPL.), 342–352.* <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.020>
- Maeda, H., Nakamura, H., & Fang, J. (2013). *The EPR effect for macromolecular*

- drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.10.002>
- Maeng, J. H., Lee, D.-H., Jung, K. H., Bae, Y.-H., Park, I.-S., Jeong, S., Hong, S.-S. (2010). *Multifunctional doxorubicin loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for chemotherapy and magnetic resonance imaging in liver cancer. Biomaterials*, 31(18), 4995–5006. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.02.068>
- Nguyen, K. T. (2011). *Targeted Nanoparticles for Cancer Therapy: Promises and Challenges. Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 2(5), 103. <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000103e>
- Press, D. (2013). *Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia.*
- Pusdatin. (2014). *Data dan Informasi Kesehatan Situasi Penyakit Kanker. Igarss 2014*, (1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Scarberry, K. E., Dickerson, E. B., McDonald, J. F., Zhang, Z. J., Scarberry, K. E., Dickerson, E. B., Zhang, Z. J. (2008). *Magnetic Nanoparticle Peptide Conjugates for in Vitro and in Vivo Targeting and Extraction of Cancer Cells Magnetic Nanoparticle - Peptide Conjugates for in Vitro and in Vivo Targeting and Extraction of Cancer Cells*, (12), 10258–10262. <https://doi.org/10.1021/ja801969b>
- Stéhelin, D. (1995). *Oncogenes and cancer. Science (New York, N.Y.)*, 267(5203), 1408–1409. <https://doi.org/10.1126/science.7878455>
- Tabaga, K. D. (2015). *Gambaran Histopatologi Payudara Mencit Kandidat Tesis Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado maju maupun negara berkembang . Satu dan kanker yang kedua paling sering terjadi pada laki-laki dan perempuan setelah Global burden of cancer (Gl, 3, 2–3.*
- Tawainella, R. D., Riana, Y., Fatayati, R., Kato, T., & Iwata, S. (2014). *Sintesis Nanopartikel Manganese Ferrite (MnFe₂O₄) dengan Metode Kopersipitasi dan Karakterisasi Sifat Kemagnetannya, XVIII(April)*, 1–7.
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-tieulent, J., & Jemal, A.

- (2015). *Global Cancer Statistics, 2012. CA: A Cancer Journal of Clinicians.*, 65(2), 87–108. <https://doi.org/10.3322/caac.21262>.
- Veronese, F. M., & Pasut, G. (2005). *PEGylation , successful approach to drug delivery Reviews, 10(21), 1451–1458.*
- Wahajuddin, & Arora, S. (2012). *Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Magnetic nanoplatforms as drug carriers. International Journal of Nanomedicine, 7, 3445–3471.* <https://doi.org/10.2147/IJN.S30320>
- Wang, J. (2009). *Solvothermal synthesis and magnetic properties of size-controlled nickel ferrite nanoparticles.ACS Nano, 5(2), 1259–1266.* <https://doi.org/10.1021/nn1029229>
- Wijono, Djoko. 2008. *Paradigmadaan Metodologi Penelitian Kesehatan.* Surabaya : CV. Duta Prima Airlangga
- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., & Car, H. (2012). *Nanoparticles as drug delivery systems. Pharmacol Rep, 64(5), 1020–1037.* [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(12\)70901-5](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(12)70901-5)
- Zwicke, G. L., Mansoori, G. A., & Jeffery, C. J. (2012a). *targeting of cancer nanotherapeutics, 1, 1–11.*

LAMPIRAN

Data Hasil Analisis Voltametri

| Kelompok Penelitian | Hasil Voltametri | | Persamaan | | ppm |
|---------------------|------------------|-------------|-----------|--------|--------|
| | Nilai X | Nilai Y | A | B | |
| K1 | 0,269885108 | 6,0552982 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0027 |
| K2 | 0,322470172 | 4,45570353 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0017 |
| K3 | 0,302364118 | 4,67573827 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0019 |
| K4 | 0,29617764 | 4,34134337 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0017 |
| K5 | 0,410627486 | 3,74203822 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0013 |
| K6 | 0,260605391 | 4,7582513 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0019 |
| K7 | 0,348762704 | 8,87955993 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0045 |
| K8 | 0,29617764 | 7,8865084 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0038 |
| I1 | 0,339482987 | 5, 01158078 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0021 |
| I2 | 0,067279496 | 7,7895194 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0038 |
| I3 | 0,126049492 | 8,22524609 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0041 |
| I4 | 0,170901456 | 8,76664737 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0044 |
| I5 | 0,206473707 | 7,81991893 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0038 |
| I6 | 0,246685815 | 7,92704111 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0039 |
| I7 | 0,334843129 | 9,83365953 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0051 |
| I8 | 0,345669465 | 7,61580776 | 1,5906 | 1,6156 | 0,0037 |



Hasil Uji SPSS

Case Processing Summary

| | Cases | | | | | |
|----------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| MNFE2O4 | | | | | | |
| Konsentrasi Targeted | 8 | 100.0% | 0 | .0% | 8 | 100.0% |
| Nontargeted | 8 | 100.0% | 0 | .0% | 8 | 100.0% |

Descriptives

| MNFE2O4 | | Statistic | Std. Error | |
|----------------------|----------------------------------|-------------|------------|--|
| Konsentrasi Targeted | Mean | .003862 | .0002994 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | .003155 | |
| | | Upper Bound | .004570 | |
| | 5% Trimmed Mean | .003892 | | |
| | Median | .003850 | | |
| | Variance | .000 | | |
| | Std. Deviation | .0008467 | | |
| | Minimum | .0021 | | |
| | Maximum | .0051 | | |
| | Range | .0030 | | |
| | Interquartile Range | .0006 | | |
| | Skewness | -1.072 | .752 | |
| | Kurtosis | 3.159 | 1.481 | |
| Nontargeted | Mean | .002438 | .0004040 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | .001482 | |
| | | Upper Bound | .003393 | |
| | 5% Trimmed Mean | .002386 | | |
| | Median | .001900 | | |
| | Variance | .000 | | |
| | Std. Deviation | .0011426 | | |

| | | |
|---------------------|-------|-------|
| Minimum | .0013 | |
| Maximum | .0045 | |
| Range | .0032 | |
| Interquartile Range | .0018 | |
| Skewness | 1.116 | .752 |
| Kurtosis | -.076 | 1.481 |

Tests of Normality

| MNFE2O4 | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Konsentrasi Targeted | .299 | 8 | .034 | .874 | 8 | .166 |
| Nontargeted | .306 | 8 | .026 | .843 | 8 | .081 |

a. Lilliefors Significance Correction

Group Statistics

| MNFE2O4 | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|----------------------|---|---------|----------------|-----------------|
| Konsentrasi Targeted | 8 | .003863 | .0008467 | .0002994 |
| Nontargeted | 8 | .002438 | .0011426 | .0004040 |

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Independent Samples Test

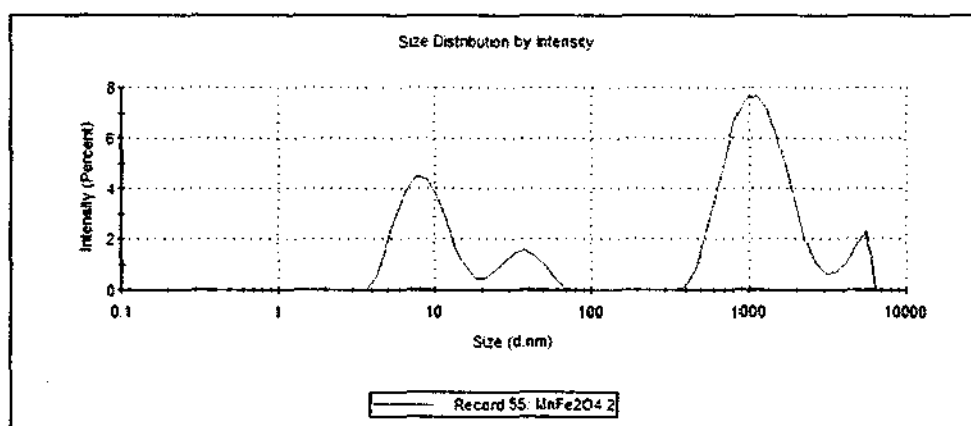
| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|-------------|--------------------------------|--------------------------------------------|------|------------------------------|--------|---------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------------------------------|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2- tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| Konsentrasi | Equal variances assumed | 1.785 | .203 | 2.834 | 14 | .013 | .0014250 | .0005028 | .0003466 | .0025034 |
| | Equal variances not assumed | | | 2.834 | 12.907 | .014 | .0014250 | .0005028 | .0003380 | .0025120 |

GRAFIK UJI DYNAMIC LIGHT SCATTERING (DLS)

A. Grafik Karakterisasi Nanopartikel Magnetik MnFe_2O_4

| | | Size (d.nm): | % Intensity: | St Dev (d.nm): | |
|-------------------|-------|--------------|--------------|----------------|-------|
| Z-Average (d.nm): | 181.3 | Peak 1: | 1203 | 58.0 | 522.3 |
| Pdi: | 0.757 | Peak 2: | 9.010 | 27.5 | 3.350 |
| Intercept: | 0.496 | Peak 3: | 37.38 | 8.2 | 10.25 |

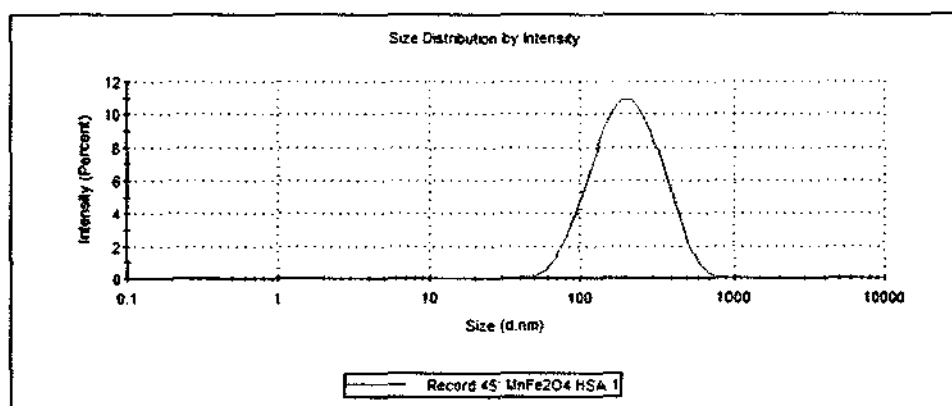
Result quality : Refer to quality report



B. Grafik Karakterisasi Nanopartikel Magnetik MnFe_2O_4 berlapis *Human Serum Albumin (HSA)*

| | | Size (d.nm): | % Intensity: | St Dev (d.nm): | |
|-------------------|-------|--------------|--------------|----------------|-------|
| Z-Average (d.nm): | 184.5 | Peak 1: | 227.3 | 100.0 | 114.5 |
| Pdi: | 0.214 | Peak 2: | 0.000 | 0.0 | 0.000 |
| Intercept: | 0.936 | Peak 3: | 0.000 | 0.0 | 0.000 |

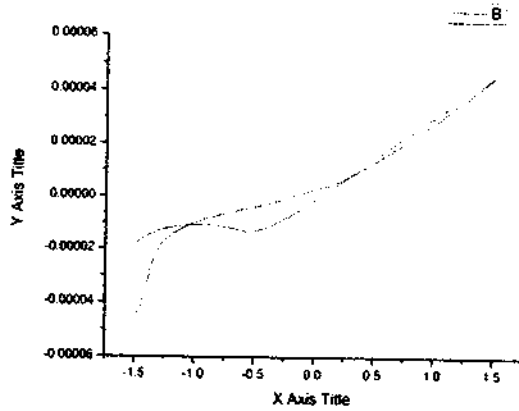
Result quality : Good



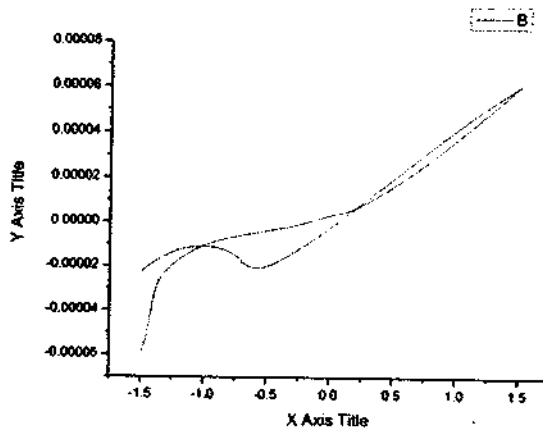
GRAFIK HASIL ANALISIS VOLTAMETRI

A. Standar Mn

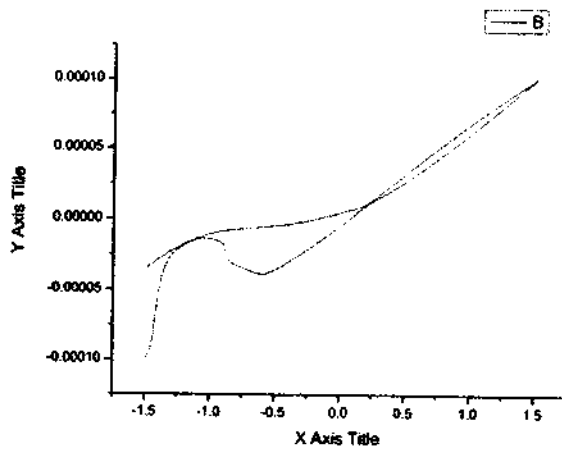
1. Standar 1ppm



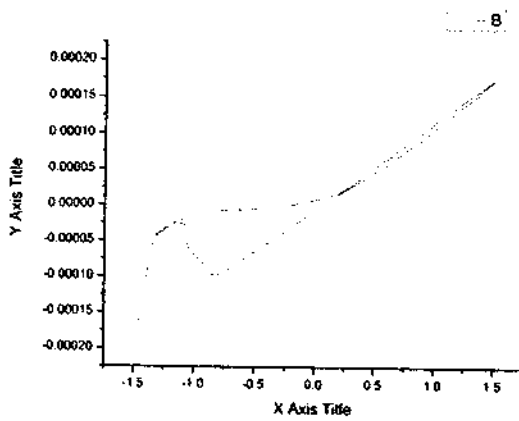
2. Standar 2ppm



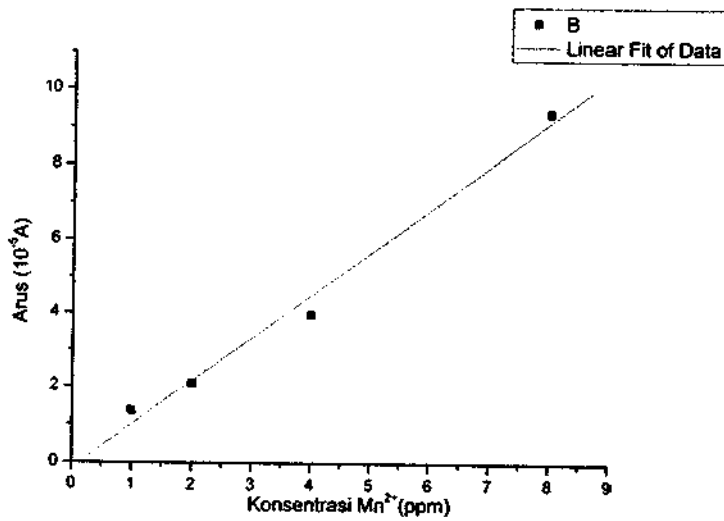
3. Standar 4ppm



4. Standar 8ppm

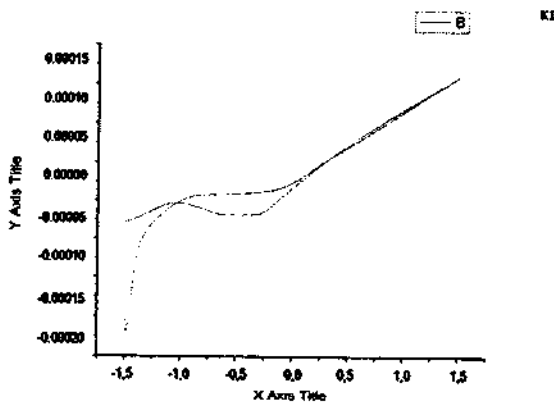


5. Kurva Kalibrasi

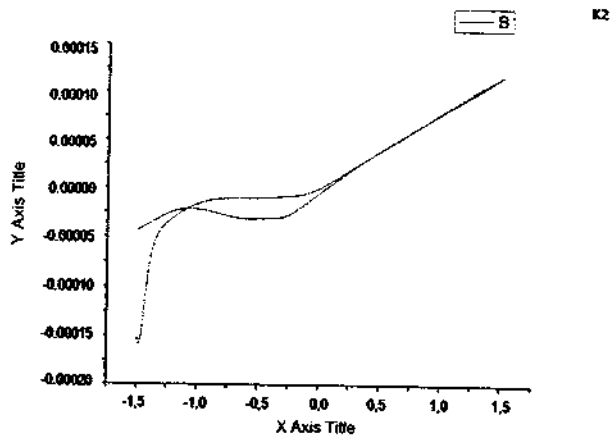


B. Kelompok Kontrol Positif

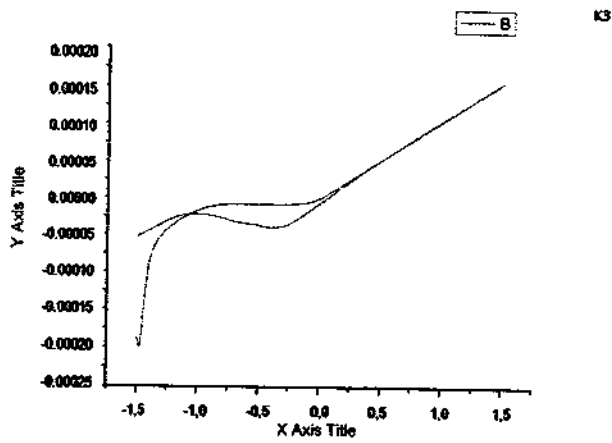
1. K1



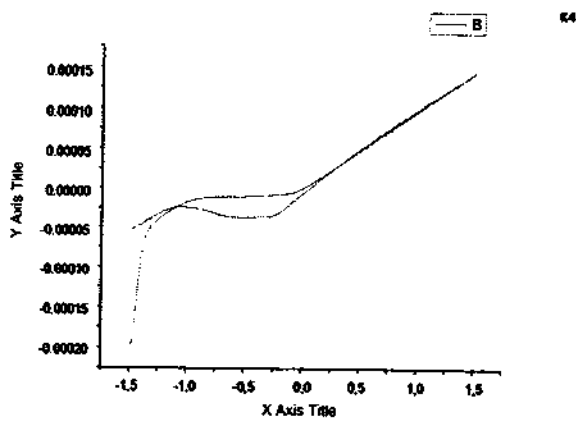
2. K2



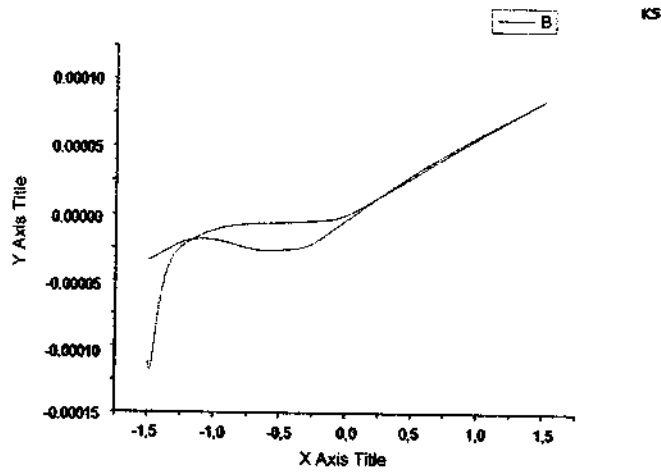
3. K3



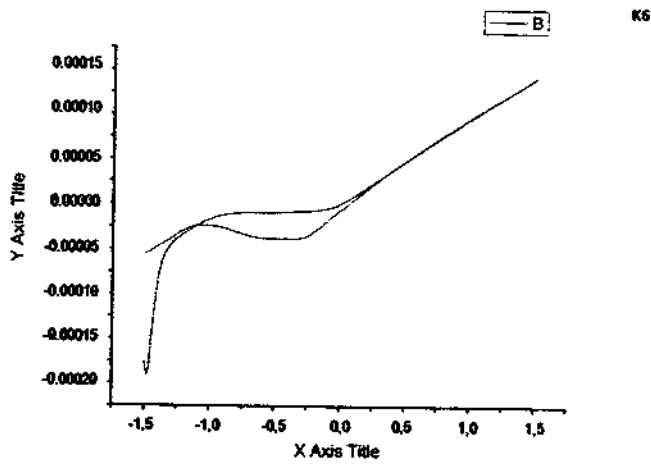
4. K4



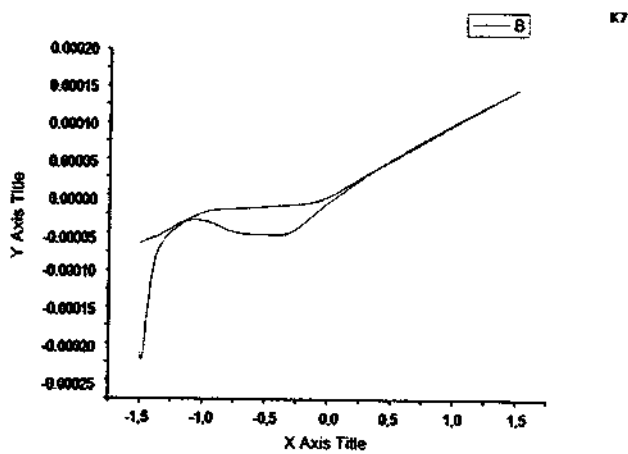
5. K5



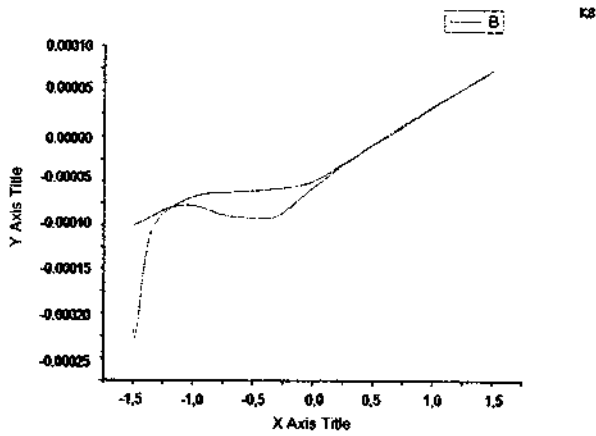
6. K6



7. K7

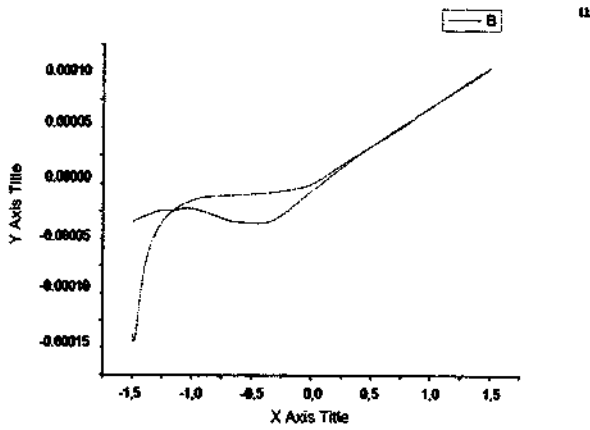


8. K8

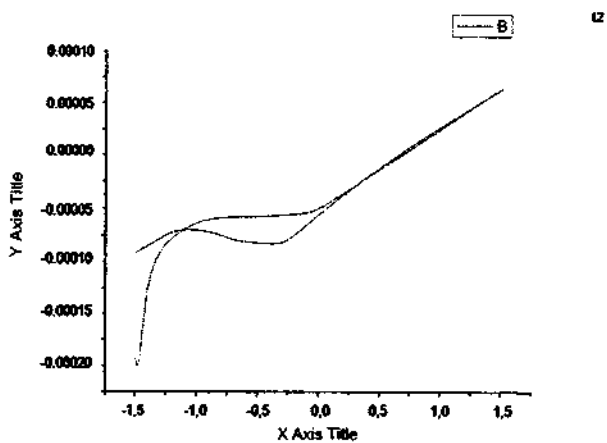


C. Kelompok Intervensi

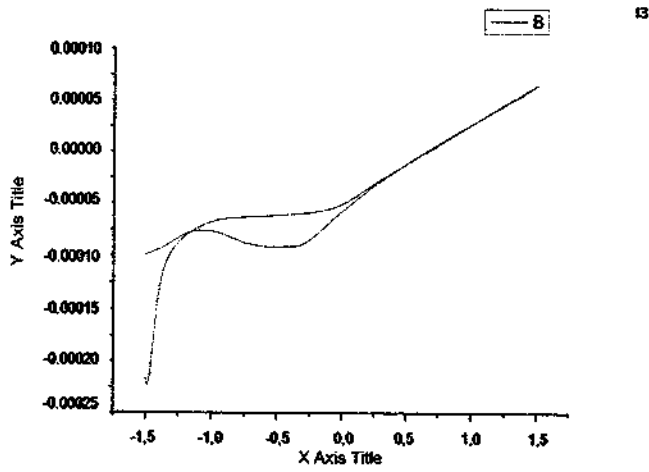
1. I1



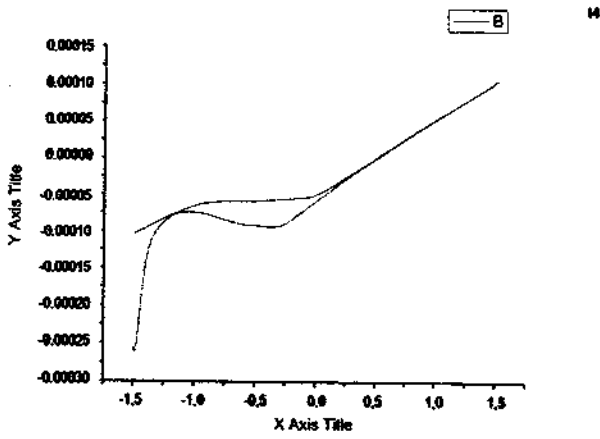
2. I2



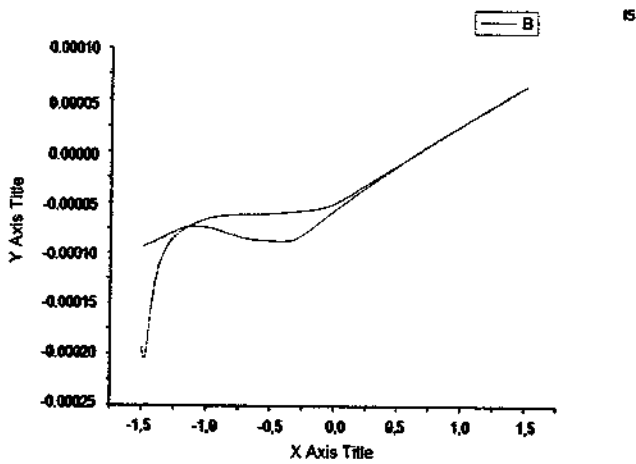
3. I3



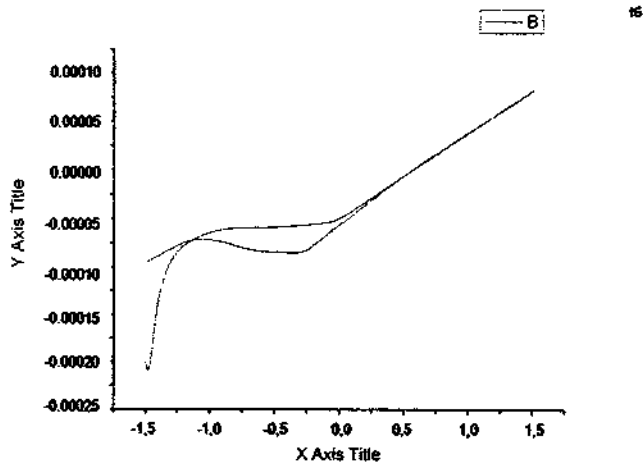
4. I4



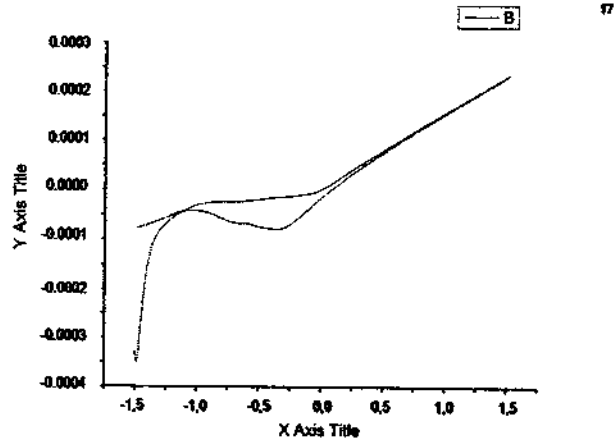
5. I5



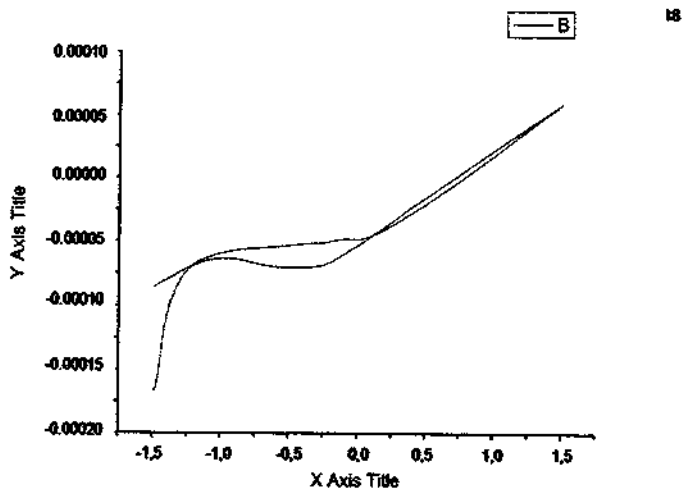
6. I6



7. I7



8. I8



a. Proses Induksi Kanker



Benzopyrene



Induksi benzopyrene



Kelompok kontrol dan
intervensi



**KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
“ ETHICAL CLEARANCE ”**

No : 599-KE

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

- PENELITIAN BERJUDUL** : Efektifitas Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_3$) Berlapis *Human Serum Albumin* (HAS) Tertarget Reseptor Folat Sebagai *Media Delivery System* Terhadap Sel Kanker Tikus Strain Wistar
- PENELITI UTAMA** : Fasih Bintang Ilhami
- UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN** : Sekolah Pasca Sarjana Universitas Airlangga
- DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Surabaya, 13 Juli 2016

Ketua,

Nurdianto Triakoso, M.P.,Drh.
NIP. 196805051997021001

Mengetahui
Dekan FKd Unair

Prof. Nurdianto Triakoso, M.Kes.,Drh.
NIP. 195604051986011001