

Efektifitas Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) Berlapis HSA Tertarget Reseptor Folat Terhadap Sel Kanker

Fasih Bintang Ilhami

Prodi S2 Teknobiomedik, Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga, Kampus B Universitas Airlangga, Jalan Airlangga 4-6, Surabaya
e-mail: fasih.ilhami17@yahoo.co.id

Abstrak

Kanker merupakan suatu penyakit ditandai dengan adanya pertumbuhan tidak normal sel jaringan tubuh dimana dalam perkembangannya, kanker dapat menyebar hingga menyebabkan kematian. Secara biomedis, Nanopartikel Magnetik (MNPs) merupakan thyranostic yang dapat dijadikan sebagai media penghantar obat dengan memanfaatkan perbedaan karakteristik sel kanker dan sel sehat dengan tujuan untuk melihat konsentrasi $MnFe_2O_4$ terhadap sel kanker pada hewan coba secara in vivo.

Untuk mengetahui ukuran partikel, dilakukan analisis Dynamic Light Scattering (DLS) dan diperoleh ukuran partikel sebesar 184.5nm. Analisis voltametri dilakukan untuk menguji efektifitas $MnFe_2O_4$ sebagai media delivery system terhadap sel kanker menggunakan standar persamaan sumbu $Y=A+Bx$ dengan persamaan $Y = -1.5906 + 1,6156X$.

Berdasarkan voltametri terdapat 54% $MnFe_2O_4$ yang terdistribusi di dalam sel kanker kelompok intervensi, dan 34% yang terdistribusi di dalam sel kanker kelompok kontrol positif sehingga disimpulkan bahwa $MnFe_2O_4$ berlapis HSA tertarget reseptor folat efektif sebagai media delivery system. Berdasarkan uji independent t-test diperoleh nilai $p=0,013 > 0,05$ hal ini menunjukkan ada perbedaan antara kelompok kontrol dan intervensi sebagai delivery system terhadap sel kanker.

Pengembangan MNPS selanjutnya masih dapat dilakukan dalam beberapa aspek, salah satunya dengan mengukur sejauh mana kemampuan delivery system tersebut mampu menembus lapisan sel kanker dapat menjadi salah satu bahan yang ideal untuk dijadikan media penghantaran obat kanker.

Kata kunci— Nanopartikel Magnetik, Penghantaran Obat, Kanker

Abstract

Cancer is a disease characterized by the abnormal growth of body tissue cells where the cancer can spread the death. In the world of biomedicine, Magnetic Nanoparticles (MNPs) is one of thyranostic that can be used as a drugs delivery system. Thus, in this study, carried out the development of MNPs as a media for drug delivery to see the concentration of $MnFe_2O_4$ in vivo.

To find out the results of the study, conducted the analysis Dynamic Absorbion Spectrofotometer (DLS) shows that $MnFe_2O_4$ coated Human Serum Albumin (HSA) has a particle size with average of 184.5 nm. Based on SPSS test, shows that the $MnFe_2O_4$ coated Human Serum Albumin (HSA) targeted folic receptor is effective as media delivery system because that found 54% $MnFe_2O_4$ in cancer cells. 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.

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 material that is ideal to be used as media drugs delivery.

Keywords— *Magnetic Nanoparticle, delivery system, cancer*

1. PENDAHULUAN

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 (Lindsey *et al.*, 2015). 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.

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.

Nanopartikel Magnetik (MNPs) merupakan salah satu *theranostic* (terapi dan diagnostik) dalam dunia biomedis yang dapat dijadikan sebagai media penghantar obat, pencitraan resonansi magnetik (MRI), terapi hipertermia, dan pelacakan *in vivo* dari sel karena memiliki biokompatibilitas yang tinggi, dan tingkat toksisitas yang rendah sebagai bahan medis yang akan dimasukkan ke dalam tubuh (Daishun Ling *et al.*, 2015).

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)*, asam folat, silika, dan hormon *somatostatin/pertumbuhan (GH)* telah banyak dikembangkan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Francesco M Veronese tahun 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 Kytai Truong Nguyeng tahun 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 Grant., *et.,al.* Tahun 2012, 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 latar belakang tersebut, maka pengembangan sistem penghantaran obat (*delivery system*) berukuran 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 dan proses pertumbuhan sel yang tidak terkontrol (Grant, L *et al.*, 2012).

2. TINJAUAN PUSTAKA

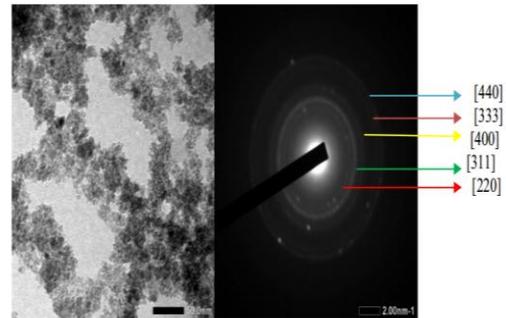
2.1 Nanopartikel Magnetik

Nanopartikel merupakan jenis partikel yang berukuran antara 1-100 nanometer. 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 (Kenneth. *et al.*, 2008).

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 (Daishun Ling, *et al.*, 2015). Proses sintesis secara kimia melibatkan reaksi kimia dari sejumlah material awal (*precursor*) sehingga dihasilkan material lain yang berukuran nanometer (Jingying wang., 2009).

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.

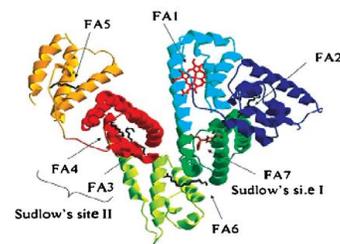


Gambar 1. Hasil pencitraan TEM nanopartikel $MnFe_2O_4$

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 $5 \mu b$. Hal ini dikarenakan Momen magnetik Mn ferit ($MnFe_2O_4$) sesuai dengan skema kopling N'eel (Rosita., 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 6.500 Da 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 $60^\circ C$ hingga 10 h) dan pelarut organik. Ketika HSA dipecah, asam amino akan memberikan nutrisi ke jaringan perifer.



Gambar 2. Struktur 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 tapi satu (Cys34) dari 35 residu sistein yang terlibat dalam pembentukan menstabilkan ikatan disulfida. Berdasarkan hasil studi depolarisasi-hidrokinamik pemodelan gabungan telah menyarankan bahwa konformasi keseluruhan HSA dalam larutan netral sangat mirip dengan yang diamati dalam struktur kristal (Ulrich., 2013).

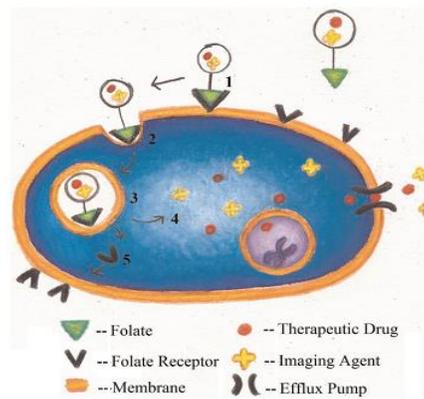
Sifat biodegradasi dan minimnya toksisitas membuatnya HSA menjadi kandidat yang ideal untuk dijadikan sebagai penghantar obat (Ahmed O. Elzoghby, *et al.*, 2012).

2.3 Folat dan Folat Reseptor

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 (Grant, L. *et al.*, 2012).

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. 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 (Lu, Y., 2016).



Gambar 3. Proses endositosis asam folat dan reseptor folat

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. 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.

2.3 Konsep 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

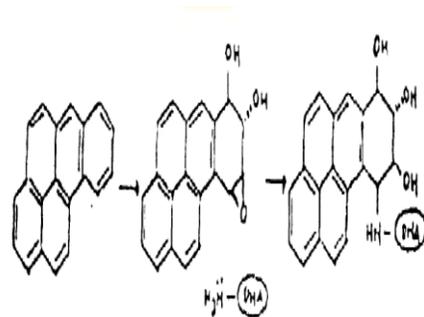
bagian tubuh tertentu yang disebut tumor. Tumor yang terdiri dari sel abnormal dan bersifat ganas disebut kanker (*cancer*). Suatu sel normal dapat berubah menjadi sel kanker karena berbagai sebab yang mengakibatkan terjadinya perubahan dan *Deoxyribonucleid Acid (DNA)* sel tersebut. Sel normal yang 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 (Cotran et al., 2005 dalam Firdaus., 2015).

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 (Oliviera et al., 2007 dalam Firdaus., 2015).

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 (Murray et al., 2009). Bahan karsinogen dapat langsung berinteraksi dengan molekul sasaran (karsinogen direk) dan sebagian ada yang memerlukan metabolisme terlebih dahulu menjadi unsur karsinogenik (prokarsinogenik).



Gambar 4. Ikatan kovaen B(a)P-7,8-diol-9,10 oxide dengan DNA

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 enzimatik. 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 (Pudjiastuti, 1997 ; Guo et al., 2002 dalam Ira Arundina., 2008).

3. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah *true-experiment* dengan rancangan *one shot case study* (Wijono., 2008). Dimana sampel

dihitung menggunakan rumus *frederer* dan diperoleh besar sampel penelitian berjumlah 20 dengan pembagian pada tiap kelompok perlakuan yang digunakan adalah 10 ekor tikus.

Variabel independen dalam penelitian ini adalah Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* tertarget reseptor folat. Variabel dependen dalam penelitian ini adalah media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*.

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *DLS (Dynamic Light Scattering)*, *Voltametri* dan *ultraviolet (UV)*. Dimana untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok dilakukan dengan menggunakan uji T 2 sampel bebas dengan tingkat kemaknaan 95% ($\alpha=0.05$).

3.1 Prosedur Induksi Sel Kanker

Serbuk *benzopyrene* dilarutkan ke dalam minyak zaitun dengan perbandingan 1:1 (1mg larutan *benzopyrene* : 1 ml minyak zaitun). Kemudian di injeksi *benzopyrene* 0,3ml/kgBB/2x seminggu secara subcutan pada area sekitar payudara selama 4 minggu.

3.1 Prosedur Preparasi Voltametri

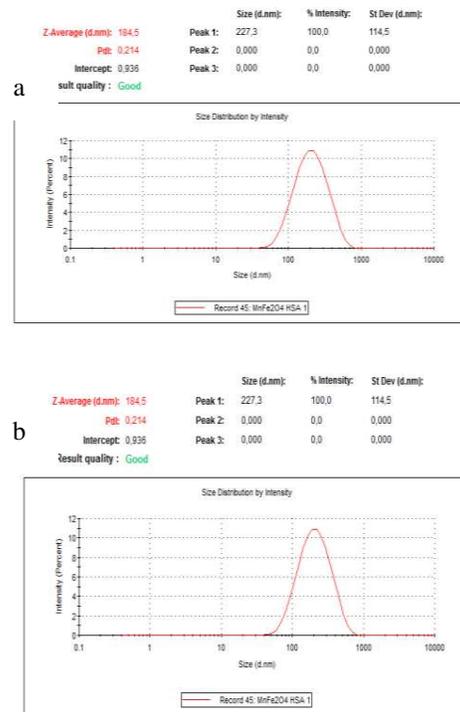
Jaringan sel kanker yang telah di ambil kemudian direndam dalam larutan formalin *buffer* 10 % selama 18 – 24 jam dan dipanaskan selama 2 jam pada suhu 108°C. Jaringan kemudian diberikan larutan asam nitrat dan asam perklorat dengan perbandingan 3 : 2 vol/vol (3ml asam nitrat : 2 asam perklorat) dan dipanaskan kembali pada suhu 250⁰ C selama 15 menit dibawah ruangan asam.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Karakterisasi *Dynamic Light Scattering (DLS)*

Hasil karakterisasi senyawa menggunakan instrumen *Dynamic Light*

Scattering (DLS) dijelaskan berupa grafik intensitas ukuran partikel seperti pada gambar dibawah ini :



Gambar 5. (a) Hasil karakterisasi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) (b) Hasil karakterisasi Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis *Human Serum Albumin (HSA)* menggunakan *Dynamic Light Scattering (DLS)*

Berdasarkan gambar 5 (a) 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%. Dengan rata-rata ukuran yang terbentuk sebesar 181.3nm. Begitu pula pada gambar 5 (b) diperoleh hasil bahwa ukuran partikel pada peak pertama sebesar 227.3nm memiliki intensitas sebanyak 100%. Sebagaimana yang dijelaskan oleh Mohanra dan Chen, (2006) bahwa suatu partikel yang memiliki ukuran sekitar 10-500nm dapat dikatakan sebagai nanopartikel.

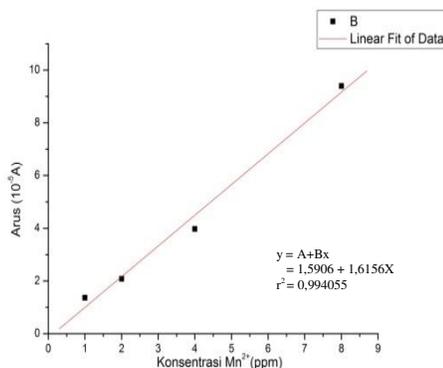
Dalam penelitian yang dilakukan oleh Fahmi (2014) dijelaskan bahwa perbandingan konsentrasi *Bovine Serum Albumin (BSA)* dengan senyawa aktif dapat memberi pengaruh terhadap ukuran partikel yang terbentuk, semakin besar konsentrasi BSA yang digunakan dalam pencampuran, maka nanopartikel yang terbentuk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

4.2 Hasil Analisis Voltametri

Untuk mengetahui tingkat konsentrasi nanopartikel magnetik berbasis dasar Mn dalam jaringan kanker maka dibuat model standar untuk menentukan konsentrasi Mn menggunakan beberapa larutan dengan konsentrasi ppm yang berbeda (1, 2, 4, dan 8 ppm). Sebelumnya, juga dilakukan pengujian pada sampel induk $MnFe_2O_4$ sebanyak 4ml dan ditemukan konsentrasi sebesar 7.0875 ppm/4ml dimana dalam 1cc mengandung 0.0070 ppm/1cc $MnFe_2O_4$.

4.2.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi $MnFe_2O_4$

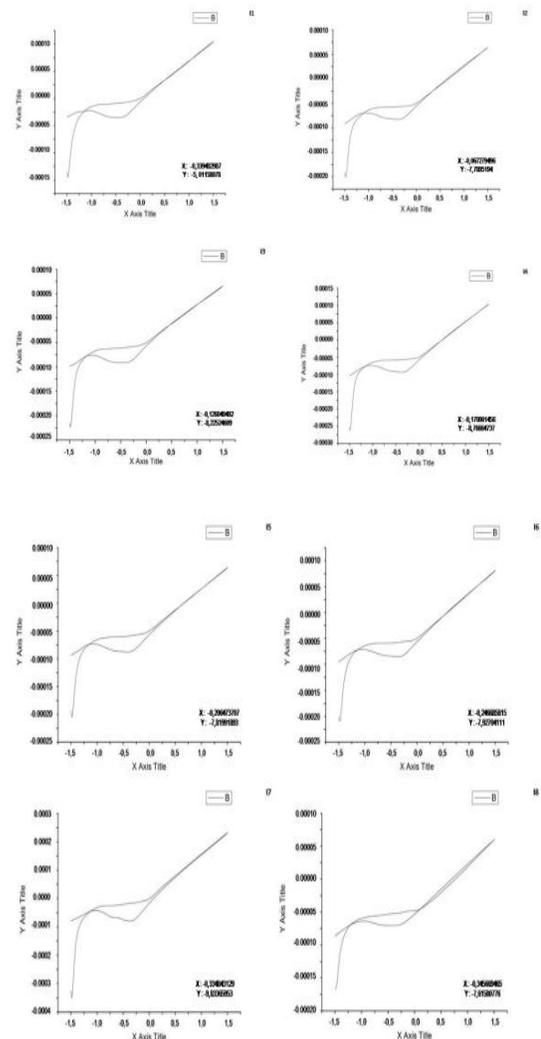
Data hasil pengukuran larutan $MnFe_2O_4$ pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada gambar kurva kalibrasi berikut :



Gambar 6. Kurva kalibrasi larutan $MnFe_2O_4$ yang diukur menggunakan voltametri

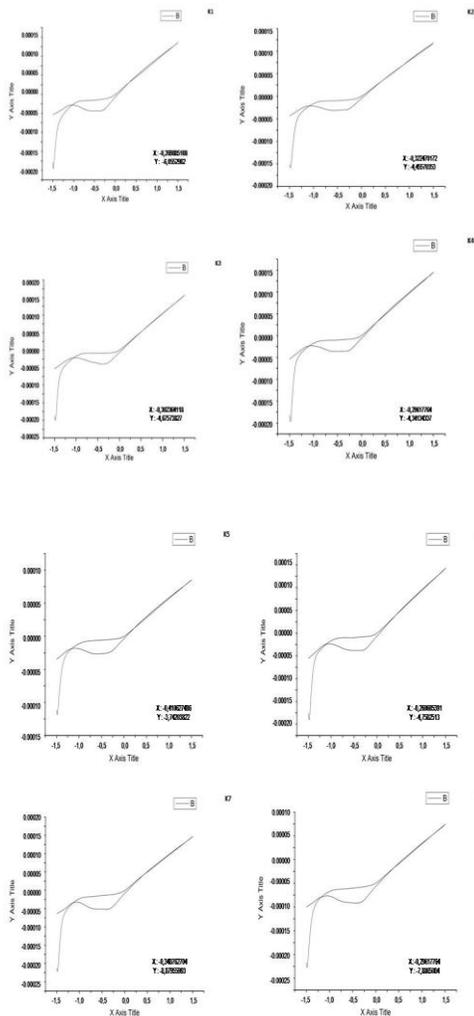
Berdasarkan gambar 6 dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi maka nilai absorbansinya akan semakin besar dan

diperoleh persamaan regresi $Y = 1,5906 + 1,6156X$.



Gambar 7. Konsentrasi $MnFe_2O_4$ pada kelompok intervensi (Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis Human Serum Albumin (HSA) tertarget reseptor folat)

Berdasarkan gambar 7 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.



Gambar 8. Konsentrasi $MnFe_2O_4$ pada kelompok kontrol positif (Nanopartikel Magnetik ($MnFe_2O_4$) berlapis Human Serum Albumin (HSA) non-target reseptor folat)

Berdasarkan gambar 8 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.

4.3 Hasil Uji SPSS

Berdasarkan hasil uji *kolmogrof smirnov* diketahui bahwa *p-value* pada kelompok kontrol positif adalah 0.026 dan pada kelompok intervensi yaitu 0.034. Hal tersebut menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dikarenakan *p-value* < α (0,05). Kemudian untuk dilakukan analisis menggunakan uji *independent t-test* maka harus dilihat homogenitas varians dari data tersebut menggunakan *leavest test* dan diperoleh *p-value* sebesar 0.203 hal ini menunjukkan bahwa varians dari data tersebut bersifat homogen dikarenakan nilai *p-value* > α (0,05).

Tabel 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	

Berdasarkan hasil analisis *independent t-test* diperoleh nilai *p-value* sebesar 0,013 < α (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*.

4.4 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 diinjeksikan 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 terkontrol senantiasa akan membutuhkan vaskularisasi lebih cepat dan meningkatkan permeabilitas dari vaskular tersebut sehingga dengan mudah dapat diakses 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, Hui S Huang (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 Manuel Arraëbo (2007) 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 (Jana, dkk., 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 Hui S Huang (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 ke dalam 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 (Ahmed O. Elzoghby *et al.*, 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 Grant, L. *et al.*, tahun 2012 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 (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.

4.5 Konsentrasi 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 (Jin Hee Maeng *et al.*, 2010). Dalam penelitian lain, juga diungkapkan bahwa sel kanker memiliki kondisi vaskular yang rapuh karena proses angiogenesis yang tidak sempurna (Wahajuddin., 2012).

Sebagaimana hasil penelitian yang diungkapkan oleh Hui S Huang tahun 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 (Heebom, Ko. 2011). Akan tetapi tingkat konsentrasi yang 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 $MnFe_2O_4$ ke dalam 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 (Ahmed O. Elzoghby *et al.*, 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.

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.

4.6 Perbedaan Konsentrasi 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 Folat 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 Grant, L. *et al.*, tahun 2012 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, Y, tahun 2016 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.

ucapkan kepada Dr. Bambang Purwanto.,dr.,M.Kes, Pembimbing yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, dan saran.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan bahwa 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 masih kurang efektif untuk dijadikan sebagai media *delivery system* terhadap sel kanker tikus *strain wistar*. Hal tersebut terjadi karena ditemukan adanya 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*.

5.2 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.

UCAPAN TERIMAKASIH

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 juga saya

DAFTAR PUSTAKA

- Agneizka. W. Wilczewska, *et al.* 2012. *Nanoparticles as drug delivery systems*. Jurnal Review. Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences.
- Ahmed O. Elzoghby, dkk, 2012. *Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems*. Journal of Controlled Release. Alexandria University. Egypt.
- Anne Larea dkk, 2015. *Microfluidic Continuous Approaches to Produce Magnetic Nanoparticles with Homogeneous Size Distribution*. Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering.
- Arundina, Ira. 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*. Disertasi. Universitas Airlangga.
- Crum CP, Lester SC, Cotran RS, 2010. *The Female Genitale System and Breast*. In (Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R) *basic Pathology 11th ed*. Elsevier Inc, New York USA.
- Daishun Ling, dkk. 2015. *Chemical Synthesis and Assembly of Uniformly Sized Iron Oxide Nanoparticles for Medical Applications*. Accounts of Chemical Research
- Fahima, Dilnawaz. 2010. *Dual drug loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted cancer therapy*. Journal Biomaterials. India.
- Fahmi, Z. Mochammad. 2014. *Simple Phase Trsferr Methods on Providing Water-Soluble Nanoparticles For Cancer Cell Detection And Therapeutics*. Disertation.
- Fahmi, Z. Mochammad. 2014. *Development of bovine serum albumin-modified*

- hybrid nanoclusters for magnetofluorescence imaging and drug delivery. Journal.
- Firdaus. A. Leo, 2013. Pengaruh Ekstrak Etanol Tumbuhan *Cayratia Trifolia L (Domin)* Terhadap Peningkatan Sel NK dan Limfosit T Sitotoksik (CD8⁺) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Sprague Dawley Model Kanker. Tesis. Universitas Airlangga.
- Grace, et al. 2008. *Molecular Origins Of Cancer Oncogenes And Cancer*. The New England Journal of Medicine. Review Article.
- Grant, L. 2012. *Utilizing the folate receptor for active targeting of cancer nanotherapeutics*. Jurnal Review
- Heeboom, Ko., et.,al. 2011. *In Vivo Targeted Delivery of Nanoparticles for Theranosis* Journal.
- Hilger, Ingrid, et al. 2002. *Thermal Ablation of Tumors Using Magnetic Nanoparticles An In Vivo Feasibility Study*.
- Hiroshi Maeda, 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*. DDS Research Institute, Sojo University. Japan.
- Hui S Huang., et.,al. 2013. *Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia*. International Journal of nanomedicine.
- Jana, Choumoka, et al. 2010. *Magnetic Nanoparticle and Targeted Drug Delivering*. Pharmacological Research
- Jin Hee Maeng, dkk. 2010. *Multifunctional doxorubicin loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for chemotherapy and magnetic resonance imaging in liver cancer*.
- Jingying, Wang. et al. 2009. *Solvothermal synthesis and magnetic properties of size-controlled nickel ferrite nanoparticles*. Journal of Alloys and Compounds
- Kenneth, et. Al. 2008. *Magnetic Nanoparticle-Peptide Conjugates for in Vitro and in Vivo Targeting and Extraction of Cancer Cells*. Articles
- Kristen D. Tabaga. 2015. *Efek Seduhan Teh Hijau (Camelia Sinesis) Terhadap Gambaran Histopatologi Payudara Mencit yang Diinduksi Benzopyrene*. Jurnal Biomedik
- Kuntoro, Haji. 2010. *Metode Samplig dan Penentuan Besar Sampel*. Surabaya : Pustaka Melati
- Kyong-Hoon Choi, 2014. *Synthesis and Characterization of Photo-functional Magnetic Nanoparticles (Fe₃O₄@HP) for Applications in Photodynamic Cancer Therapy*. Journal of the Korean Physical Society.
- Lindsey, A. Tore dkk, 2015. *Global Cancer Statistic, 2012*.
- Lu., Y., et.al., 2016. *Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents*. Department of Chemistry, 1393 Brown Building, Purdue University, West Lafayette, IN 47907, USA
- Mannueal Arraebo 2007. *Manps for drug delivery*. Nanoscience Institute of Aragon, University of Zaragoza, Spain.
- Murray, et al. 2009. *Guidance for Life, Cell Death, and Colorectal Neoplasia by Netrin Dependence Receptors*.
- Nguyen, T. Kytai. 2011. *Targeted Nanoparticles for Cancer Therapy: Promises and Challenges*. Department of Bioengineering, University of Texas at Arlington, Arlington, TX, USA.
- Pusat Data dan Informasi 2015. Buletin Kanker : Situasi Penyakit Kanker.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI 2015. Stop Kanker : Situasi Penyakit Kanker.
- Rosita, D. Tawanaila. 2014. *Sintesis Nanopartikel Manganese Ferrite (MnFe₂O₄) dengan Metode Kopresipitasi dan Karakterisasi Sifat Kemagnetannya*. Jurnal Fisika Indonesia. Universitas Gadjah Mada
- Ulrich Kragh-Hansen, 2013. *Molecular and practical aspects of the enzymatic properties of human serum albumin and of albumin–ligand complexes*. Jurnal. Department of Biomedicine, University of Aarhus. Denmark.

- Veronese, M. Fransesco, *et al.* 2005. PEGylation, Successful Approach to Drug Delivery. *Jurnal Review*. Department of Pharmaceutical Sciences, Padua University.
- Wahajuddin., et.,al. 2012. *Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers.*
- Wijono, Djoko. 2008. *Paradigma dan Metodologi Penelitian Kesehatan.* Surabaya : CV. Duta Prima Airlangga
- Zakaria, Sunarni. 2013. *Studi Farmakodinamik Fraksi Alkaloid Achyranthes Asperal Terhadap Ekspresi Protein CDK₁, BAX, dan Ras Sel Kanker Payudara Mencit Hasil Induksi Benzophyrene.* Disertasi.

APPENDIX