

## Clearance profile of radioactive gold nanoparticle ( $^{198}\text{Au}$ ) conjugates-poliamidoamin generation 4-nimotuzumab ; potential radio-pharmaceutical theranostic agent

### Profil klirens konjugat nanopartikel emas radioaktif ( $^{198}\text{Au}$ )-poliamidoamin generasi 4-nimotuzumab: radiofarmaka potensial sebagai agen theranostic

Nur Hatidjah Awaliyah Halid<sup>\*1</sup>, Sutriyo<sup>1</sup>, Abdul Mutalib<sup>2</sup>, Anung Pujiyanto<sup>3</sup>,  
Adang Hardi Gunawan<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia  
Kampus UI Depok 16424

<sup>2</sup> Fakultas MIPA, Kimia, Universitas Padjajaran  
Jl. singaperbangsa no 2, Bandung 40132

<sup>3</sup> Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka (PTRR)-BATAN  
Kawasan Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan 15314

Submitted: 05-07-2017

Reviewed: 28-07-2017

Accepted: 29-10-2017

#### ABSTRAK

Agen *theranostic* merupakan agen yang berfungsi menggabungkan kemampuan diagnostik dan terapeutik menjadi agen tunggal. Adanya konjugasi agen terapi kanker seperti antibodi monoklonal nimotuzumab dengan nanopartikel emas radioaktif yang distabilisasi dengan dendrimer poliamidoamin generasi 4 (PAMAM G4) dapat secara aktif berinteraksi spesifik dengan sel kanker. Emas radioaktif ( $^{198}\text{Au}$ ) sebagai pemancar radiasi  $\beta$  (961 keV) yang mampu membunuh sel kanker dan sinar  $\gamma$  (412 keV) yang memberikan citra emas dalam tubuh, sehingga dapat berperan sebagai suatu agen *theranostic*. Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh hasil yang meyakinkan keamanan konjugat dengan mengamati klirens konjugat  $^{198}\text{AuNP}$ -PAMAM G4-Nimotuzumab. Hasil klirens konjugat akan menjadi acuan keadaan metabolisme sebagai radiofarmaka baru yang stabil dan utuh pada saat sampai di target yang diinginkan. Penelitian ini dimulai dengan sintesis konjugat  $^{198}\text{AuNP}$ -PAMAM G4-nimotuzumab dan kemudian dilakukan uji klirens serta analisa hasil urin dan feses tikus yang telah diinjeksikan konjugat. Total klirens yang diperoleh sekitar 47,38 % dari konjugat  $^{198}\text{AuNP}$ -PAMAM G4-Nimotuzumab yang telah diekskresikan melalui urin (18,26 %) dan feses (29,11 %). Urin dan feses tersebut dianalisa dengan SDS-PAGE memberikan yang memberikan spot diatas pita 150 kDa dan menunjukkan berat molekul konjugat. Analisis FTIR urin dan feses dengan menunjukkan gugus fungsi aldehyd (C=O), gugus alkohol (O-H), gugus amina (C-N), serta gugus amina (N-H) yang menandakan adanya konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab dalam urin maupun feses tikus. Hasil eksresi urin dan feses dari konjugat dianggap masih berbentuk konjugat didukung dengan analisis SDS PAGE, analisis serapan spektrofotometer UV-Vis dan analisis gugus fungsi dengan FTIR yang dilakukan.

**Kata kunci:** nanopartikel emas, PAMAM G4, nimotuzumab, agen *theranostic*, klirens

---

*Penulis korespondensi:*

Nur Hatidjah Awaliyah Halid  
Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia  
Kampus UI Depok 16424  
Email: nur.hatidjah@ui.ac.id

## ABSTRACT

Theranostic agents are agents that combine diagnostic and therapeutic capabilities into a single agent. The presence of conjugated cancer which is therapeutic agents such as nimotuzumab monoclonal antibodies with radioactive gold nanoparticles stabilized with Polyamidoamine Generation 4 (PAMAM G4) dendrimer can actively interact with specific cancer cells. Radioactive gold ( $^{198}\text{Au}$ ) as a radiation transmitter  $\beta$  (961 keV) capable for killing cancer cells and (412 keV)  $\gamma$  rays that give a golden image in the body, thus acting as a theranostic agent. The purpose of this study was to obtain confident results of conjugate safety by observing the constituent clearance of  $^{198}\text{AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab}$ . The result of the conjugate clearance will be the reference for the metabolic state as a new, stable and complete radiofarmaka upon reaching the desired target. This study began with the synthesis of the conjugate of  $^{198}\text{AuNP-PAMAM G4-nimotuzumab}$  and then tested the clirens and analyzed the results of urine and mouse feces that had been injected with conjugate. Total clearance was obtained about 47.38% of the  $^{198}\text{AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab}$  conjugates that have been excreted through urine (18.26%) and stool (29.11%). Urine and feces were analyzed with SDS-PAGE giving the spot above the 150 kDa band and showing the conjugate molecular weight. FTIR analysis of urine and feces by showing aldehyde functional groups (C = O), alcoholic groups (O-H), amine groups (C-N), and amine groups (N-H) indicating the presence of AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab conjugates in urine and mouse feces. The results of urine and fecal excretion of the conjugate are still conjugate-shaped supported by SDS PAGE analysis, UV-Vis spectrophotometer absorption analysis and functional group analysis with FTIR that has been conducted.

**Keywords:** gold nanoparticle, PAMAM, nimotuzumab, theranostic agent, clearance

## PENDAHULUAN

Penanganan penyakit kanker semakin memberikan tantangan dengan munculnya fakta bahwa penyakit kanker memiliki diagnosa dan terapi yang heterogen dengan perawatan yang efektif untuk pasien tertentu dan pertumbuhan kanker yang tidak spesifik. Sehingga dibutuhkan suatu agen yang mampu menggabungkan kemampuan diagnostik dan terapeutik menjadi agen tunggal, yang disebut agen theranostic. Penggunaan sediaan *theranostic* tidak hanya sebagai agen terapai dan diagnosa saja tetapi juga dapat sebagai sarana monitoring terapi karena dapat terdeteksi lokasi akumulasi konjugat dengan adanya radiasi (Ahmed *et al.*, 2012).

Akhir-akhir ini sedang berkembang penelitian nanopartikel emas sebagai agen citra. Hal tersebut beralasan karena radioaktif emas ( $^{198}\text{Au}$ ) memiliki kemampuan pemancar radiasi beta ( $\beta$ -partikel) dan sinar gamma ( $\gamma$ -ray) dengan waktu paruh 2,69 hari, serta memiliki jarak efisien sekitar 1 mm dari jaringan sel kanker (Setiawan *et al.*, 2012). Radiasi beta ( $\beta=961$  keV) yang dipancarkan memiliki energi yang cukup tinggi untuk membunuh sel kanker dan radiasi gamma ( $\gamma=412$  keV) yang dapat digunakan untuk melakukan pencitraan sebaran nanopartikel emas di dalam tubuh (Phillips *et al.*, 2014).

Penggunaan nanopartikel emas radioaktif yang distabilisasi dengan dendrimer PAMAM G4 berperan sebagai penghantaran tertarget pasif sehingga dapat dilakukan konjugasi dengan agen terapi kanker seperti antibodi monoklonal untuk dapat berinteraksi spesifik dengan sel kanker. Penelitian sebelumnya, sutriyo (2015) melakukan preparasi sediaan nanopartikel emas-PAMAM G4 yang membentuk konjugat dengan antibodi monoklonal nimotuzumab yang stabil, serta memberikan efek kontras lebih baik pada CT-scan.

Nimotuzumab sebagai agen terapi merupakan antibodi monoklonal yang digunakan sebagai obat anti kanker. Nimotuzumab ini termasuk dalam kelompok inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR). Senyawa ini mampu berinteraksi dengan reseptor HER-1 yang diekspresikan berlebih oleh sel-sel kanker glioma, paru ovarium, dan kolorektal. Penggunaan kombinasi

nimotuzumab bersama zat radioaktif dengan pengiriman radiasi secara internal maupun eksternal meningkatkan efek terapeutik (Humani *et al.*, 2015). Dalam perkembangan terakhir, nimotuzumab telah terfragmentasi dan kemudian dapat diberi label menggunakan diagnostik dan terapeutik radionuklida, seperti gallium-68, yttrium-90, lutetium-177, dan holmium-166. Sitotoksitas <sup>177</sup>Lu-DOTA-Nimotuzumab dapat membunuh sel line A549 (karsinoma paru) lebih baik dibanding nimotuzumab tanpa *tracer* (penanda)(Ramli *et al.*, 2012).

Pengembangan suatu obat termasuk radiofarmaka harus melalui uji keamanan dan efektifitas yang melalui tahapan praklinis kemudian dilanjutkan pada proses uji klinik (Gunawan, *et al.*, 2007). Suatu produk radiofarmaka harus cukup stabil sehingga masih dalam keadaan utuh pada saat sampai di target yang diinginkan (Lestari *et al.*, 2012). *Food and Drug Administration* (FDA, 2010) menyatakan uji biodistribusi merupakan salah satu tahapan uji klinik non invasif yang berdasar pengamatan dari tentu waktu untuk pengiriman, penyerapan, dan retensi obat radioaktif di berbagai situs jaringan dalam tubuh.

Konjugasi <sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4 dengan antibodi monoklonal nimotuzumab dapat digunakan untuk senyawa pengkontras CT-Scan spesifik target pada tingkatan diagnosa molekular untuk keperluan diagnosis kanker paru-paru (Gunawan, *et al.*, 2014). Konjugat nanopartikel emas radioaktif-PAMAM G4-nimotuzumab diharapkan dapat menjadi senyawa pengontras SPECT-CT scan spesifik pada tingkatan diagnosa molekular dan sebagai agen terapi kanker tertarget. Konjugat terdistribusi paling besar pada organ limpa (12,43%), hati (10,57%) ginjal (5,60%) dan diekskresikan sebesar 37,72 % dalam waktu 9 hari setelah penggunaan dengan hasil terbesar di 3 hari pertama (Sutriyo, 2015). Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh hasil yang meyakinkan keamanan konjugat sebagai agen diagnosa molekular dan terapi tertarget dengan mengamati klirens konjugat <sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab. Penelitian ini menjadi penelitian lanjutan dari penelitian-penelitian sebelumnya dan diharapkan dapat memberikan data profil metabolisme dari konjugat <sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab .

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), Fourier Transform Infra Red (FTIR) (Bruker Tensor 27), Refrigerated centrifuge (Beckman-Allegria), Gamma counter (Hettich EBA 8S), Incubator (Medline Topincu 150), Vortex (Fisher Scientific), kamera gamma, , Manetic stirrer, Elektroforesis, Kolom PD-10 Silica Gel G 25 medium, SDS-PAGE, Agarose Gel Electrophoresis. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Nimotuzumab (TheraCIM), <sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4 (PTRR-BATAN), Human Serum Albumin (HSA)( Sigma-Aldrich), larutan salin (NaCl 0,9%) (IPHA-laboratories), Phosphate Buffered Saline (PBS) (Gibco), NaIO<sub>4</sub> (E.Merck), Etilenglikol (E.Merck), Sodium Dedosil Sulfat (Invitrogen), Akrilamid/bis- Akrilamid (Biorad), Ammonium persulfat (APS) (Biorad), N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED) (AppliChem), 2-mercaptoetanol (Sigma-Aldrich), Coomassie Brilliant Blue (Pharmacia), Ammonium bikarbonat (E.Merck). Hewan coba; tikus jantan normal Galur *Sprague dawley* dengan berat ±200 gram dan berumur 8-10 bulan (PTKMR-BATAN). Evaluasi *ethical clearance* untuk penggunaan tikus dalam penelitian ini dilakukan oleh Komisi Etik Penggunaan dan Pemeliharaan Hewan Percobaan(KEPPHP)-BATAN.

### Jalannya Penelitian

#### Penyediaan <sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4

<sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4 dibuat oleh PTRR-BATAN dengan konsentrasi 2 mg AuNP-PAMAM G4 /mL AuNP.

#### Konjugasi Nimotuzumab pada <sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4

Aktivasi nimotuzumab dilakukan dengan menggunakan NaIO<sub>4</sub> dengan rasio mol Nimotuzumab (0,003 mmol) terhadap NaIO<sub>4</sub> (1,5 mmol) . Nimotuzumab dan NaIO<sub>4</sub> masing-masing dilarutkan dalam dapar asetat pH 5,5, dicampur dan kemudian diinkubasi pada suhu 2-8°C dan dilindungi dari cahaya selama 2 jam. Setelah itu ditambahkan 100 µL etilenglikol ke dalam campuran, kemudian diinkubasi

selama 30 menit pada suhu 2-8°C terlindung dari cahaya. Larutan CHO-Nimotuzumab dimurnikan menggunakan protein filter (Vivaspin 30 KD MWCO) dengan cara disentrifugasi beberapa kali pada kecepatan 4000 rpm. Hasil pemurnian dilarutkan dalam larutan dapar fosfat 0,1 M pH 6,5 sampai volume akhir 500 µL (Esumi et al, 2003).

Konjugat <sup>198</sup>AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab dibuat dengan mereaksikan sebanyak 1 mL larutan 2 mg AuNP-dendrimer PAMAM G4/mL AuNP dengan 1,5 mL larutan 10 mg CHO-Nimotuzumab/mL Nimotuzumab. Campuran kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 2-8°C terlindung dari cahaya yang diikuti dengan penambahan 42 µL larutan NaBH<sub>4</sub> (4 mg/mL). Campuran kemudian diinkubasi kembali selama 3 jam pada suhu 2-8°C terlindung dari cahaya. Prosedur yang sama juga digunakan untuk penyiapan AuNP-PAMAM G4 dengan Nimotuzumab (Ramli et al, 2012).

### **Pemurnian Konjugat <sup>198</sup>AuNP(AuNP)-PAMAM G4 –Nimotuzumab**

Pemurnian konjugat dilakukan dengan menggunakan metode ultrafiltrasi sentrifugasi menggunakan protein filter (Vivaspin 30 KD MWCO). Ultrafiltrasi dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan konjugat dan dimasukkan kedalam protein filter yang diikuti dengan penambahan dapar fosfat pH 6,5 sehingga volumenya menjadi 2 mL. Protein filter kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm sehingga diperoleh volume akhir 150 µL. Sentrifugasi dilakukan 4 kali yang diikuti dengan pengambilan kembali Konjugat <sup>198</sup>AuNP(AuNP)-PAMAM G4 –nimotuzumab hasil pemurnian. Produk yang didapatkan volumenya yang dicukupkan sampai 1 mL dan selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer Ultra Violet (UV) (Sutriyo, 2015).

### **Uji klirens**

Hewan coba tikus normal Galur *Sprague dawley* diinjeksikan dengan konjugat <sup>198</sup>AuNp-PAMAM G4-nimotuzumab secara intravena dengan radioaktivitas ±40 µCi dalam volume maksimum 200 µL. Hewan coba tikus setelah injeksi <sup>198</sup>AuNp-PAMAM G4-nimotuzumab ditempatkan pada *metabolic cage*. Urin dan feses ditampung secara terpisah. Setiap 24 jam urin dan feses yang ditampung kemudian dicacah. Penampungan urin dan feses dilakukan sampai dengan 72 jam setelah penyuntikan.

### **Analisis urin dan feses konjugat AuNp-PAMAM G4-nimotuzumab**

Hewan coba tikus normal diinjeksikan dengan 200 µL sediaan AuNp-PAMAM G4-nimotuzumab secara intravena. Hewan coba tikus setelah injeksi AuNp-PAMAM G4-nimotuzumab ditempatkan pada *metabolic cage* kemudian urin dan feses ditampung sampai dengan 72 jam setelah penyuntikan. Kemudian dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan alat : Fourier Transform Infra Red (FTIR), Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS Page), Kromatografi Filtrasi Gel (kolom PD-10 sphadex G25 medium) dan Spektrofotometer UV-Vis.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penggunaan konjugat <sup>198</sup>AuNp-PAMAM G4-nimotuzumab tidak hanya sebagai agen terapi dan diagnosa saja tetapi juga diharapkan dapat sebagai sarana monitoring terapi karena dapat terdeteksi lokasi akumulasi konjugat dengan adanya radiasi. Penggunaan konjugat ini juga dapat memberikan kenyamanan penggunaan kepada pasien dibandingkan dengan metode brakiterapi. Penggunaan konjugat nanopartikel emas radioaktif-PAMAM G4-nimotuzumab dapat memberikan efek

pengembangan fungsi modalitas CT-scan dari pencitra anatomi menjadi molekuler, dapat berfungsi sebagai agen pengontras pada modalitas hybrid SPECT/CT.

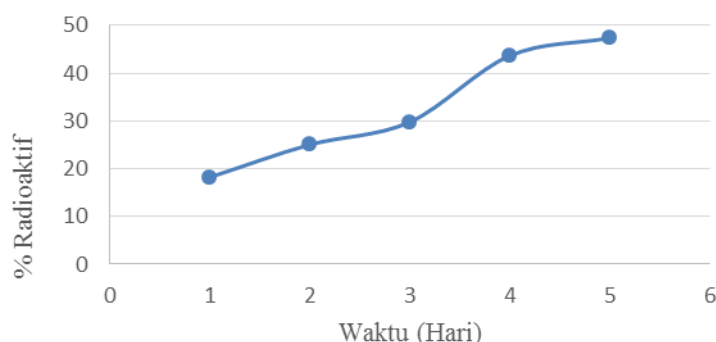
Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji biodistribusi terhadap konjugat nanopartikel emas radioaktif ( $^{198}\text{AuNp}$ )-PAMAM G4-nimotuzumab. Data absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi harus diketahui untuk memastikan keamanan dan/atau efektifitas produk yang diteliti sebelumnya agar dapat dilakukan tahapan uji klinik. Analisis hasil urin dan feses diharapkan mampu memberikan interpretasi kestabilan dan kemurnian sediaan yang akurat, serta memberikan hasil metabolisme yang aman tanpa adanya efek samping dan konjugat  $^{198}\text{AuNp}$ -PAMAM G4-nimotuzumab dapat digunakan dalam aplikasi klinis.

Pembuatan konjugat  $^{198}\text{AuNp}$ -PAMAM G4-nimotuzumab dibuat berdasarkan metode yang sebelumnya dilakukan Sutriyo, et al (2015)  $^{198}\text{AuNp}$ -PAMAM G4-nimotuzumab dibuat dengan mereaksikan  $^{198}\text{AuNp}$ -PAMAM G4 dengan bentuk aldehid dari Nimotuzumab yang telah diaktivasi (CHO-Nimotuzumab). Aktivasi Nimotuzumab menjadi CHO-Nimotuzumab dilakukan dengan mereaksikan Nimotuzumab dengan larutan  $\text{NaIO}_4$ . Hasil dari aktivasi nimotuzumab (CHO-Nimotuzumab) dimurnikan secara ultrafiltrasi sentrifugasi dengan menggunakan tabung vivaspin 30KD/30.000 MWCO (*Molecular Weight Cut Off*).

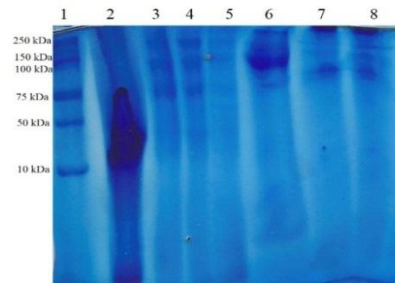
Konjugat yang telah dimurnikan siap untuk pengujian klirens pada hewan uji. Penggunaan konjugat  $^{198}\text{AuNp}$ -PAMAM G4-nimotuzumab sebagai pengganti senyawa AuNP-PAMAM G4-nimotuzumab untuk memudahkan melihat keberadaan senyawa tersebut dalam tubuh hewan uji. Analisa radiasi konjugat dapat dilakukan menggunakan alat pendeteksi radioaktif seperti *Gamma Ionization Chamber* (GIC) ataupun dengan *Dose calibrator*.



**Gambar 1.** Hasil penampungan urin dan feses pada *metabolic cage*



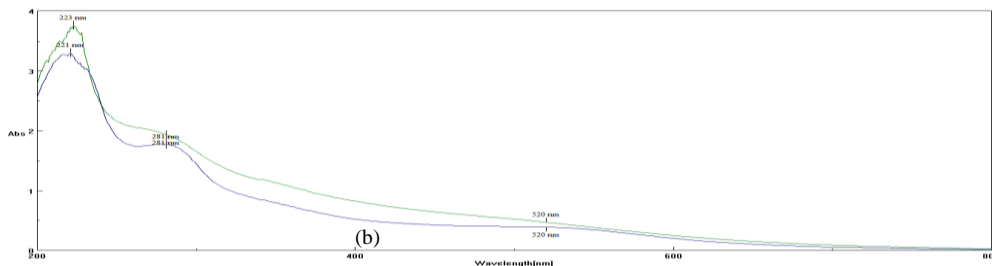
**Gambar 2.** Profil total klirens (urin & feces) konjugat  $^{198}\text{AuNp}$ -PAMAM G4-nimotuzumab pada hewan uji



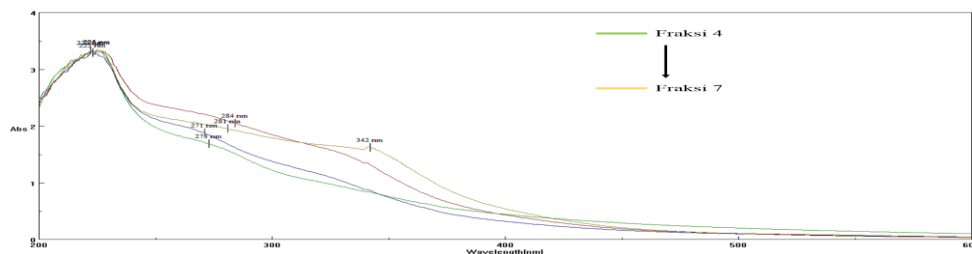
**Gambar 3. Hasil SDS PAGE (1) standar protein, (2) konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab, (3) Urin hari 1, (4) Urin hari 2, (5) Urin hari 3, (6) Feses hari 1, (7) Feses hari 2, (8) Feses hari 3**

Profil total klirens (urin + feses) yang ditampilkan pada Gambar 2, terlihat bahwa sampai dengan hari ke 5 setelah penyuntikan sekitar 47,38 % dari konjugat  $^{198}\text{AuNP-PAMAM G4-nimotuzumab}$  telah diekskresikan melalui urin dan feses. Total klirens konjugat terjadi melalui urin sebesar 18,26 % dan feses 29,11 %. Hasil tersebut didukung dengan penelitian sebelumnya dimana konjugat  $^{198}\text{AuNP-PAMAM G4-nimotuzumab}$  terdistribusi paling besar pada organ limpa (12,43%), hati (10,57%) ginjal (5,60%) dan diekskresikan sebesar 37,72 % (Sutriyo, 2015).

Identifikasi keberadaan konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab pada urin maupun feses dari hewan uji yang telah disuntikkan konjugat dilakukan dengan analisis menggunakan SDS PAGE. SDS PAGE merupakan identifikasi kualitatif protein berdasarkan berat molekul senyawa protein dengan satuan kilo Dalton (kDa). Karena tiap protein memiliki *range* berat molekul yang berbeda. Berdasarkan berat molekul konjugat dapat diperkirakan berdasarkan komposisi konjugat, seperti; nimotuzumab yang digunakan memiliki bobot molekul 160 kDa atau 160.000 g/mol (TheraCIM, 2012), dendrimer PAMAM generasi 4 memiliki bobot molekul 14215 g/mol (Nanjwade et al., 2009) serta Au yang digunakan memiliki massa atom 198 g/mol, sehingga berat molekul dari konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab sekitar 174,413 g/mol. Analisis dengan SDS PAGE dilakukan pada urin dan feses tikus yang ditampung pada *metabolic cage*.



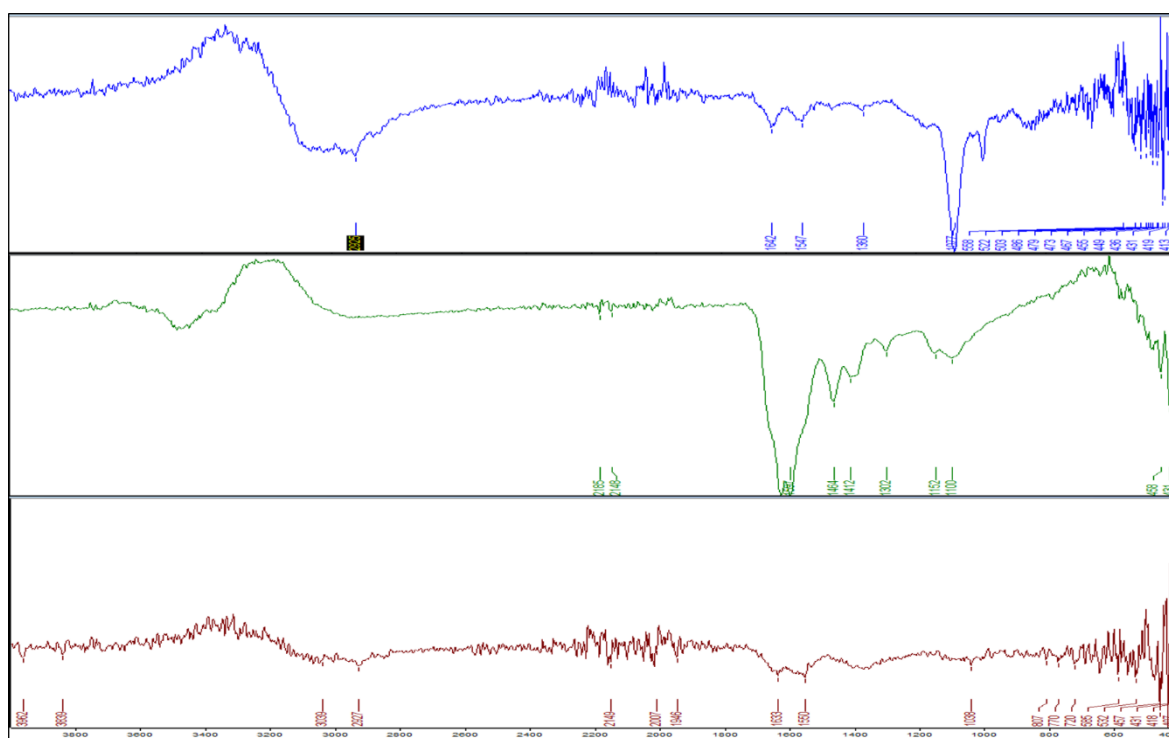
**Gambar 4. Serapan UV (a)  $^{198}\text{AuNP-PAMAM G4}$  (b) konjugat  $^{198}\text{AuNP-PAMAM G4-nimotuzumab}$**



**Gambar 5. Spektrum urin tikus yang telah disuntikkan AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab yang telah melalui kolom PD-10**

Hasil SDS-PAGE pada Gambar 3 memperlihatkan bahwa terdapat pita-pita protein yang dapat diidentifikasi sebagai AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab. Pada gambar 3, terlihat jelas pada kolom 3, 4, dan 5 yang merupakan analisis dari urin dari hari 1 hingga 3 memberikan pita yang berada pada pita standar antara 150 kDa dan 250 kDa. Berat molekul konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab berada pada kisaran 174 kDa atau sekitar 174,413 g/mol. Sehingga dapat dikatakan pita tersebut menandakan bahwa konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab. Hal yang sama pada kolom 6, 7, dan 8 yang merupakan analisis dari feses dari hari 1 hingga 3 memberikan pita yang juga berada sejajar dengan standar protein antara pita 150 kDa dan 250 kDa. Adanya pita selain pada pita 150 kDa dan 250 kDa menunjukkan adanya senyawa yang terdapat pada urin maupun feses tikus seperti urea, amonia, kreatinin dan keratin, asam amino, klorida (terutama NaCl), sulphur, fosfat, serta mineral lainnya.

Berdasarkan uji klirens diketahui bahwa diperoleh aktivitas konjugat terbesar di hari pertama (Sutriyo, 2015). Sehingga sampel yang dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan urin pada hari ke pertama penampungan. Hasil urin kemudian dimurnikan dengan kolom PD-10 dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Gambar 5). Konjugat AuNP-PAMAM G4-nimotuzumab pada gambar 3 menunjukkan adanya serapan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 281 nm dengan absorbansi 1,767. Sedangkan hasil analisis serapan urin dari fraksi 4 menunjukkan serapan pada  $\lambda$  279 nm dengan absorbansi 1,601. Hasil ekskresi urin sebagian besar (~70 % dari asal 85 %) masih berupa senyawa AuNP-PAMAM G4-nimotuzumab yang artinya sebagian besar senyawa diekskresikan masih utuh sebagai AuNP-PAMAMG4-nimotuzumab dan tidak mengalami kerusakan atau peruraian selama proses metabolisme, distribusi sampai ekskresi.



**Gambar 6.** Spektrum IR (1) konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab, (2) hasil urin, (3) hasil feses

Hasil penentuan spektrum inframerah konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab serta hasil urin dan feses dari tikus yang telah disuntikkan konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab dapat dilihat pada Gambar 6. Terdapat spektrum yang memberikan intensitas kuat dengan menandakan adanya gugus aldehyd (C=O), gugus alkohol (O-H), gugus amina (C-N), serta gugus amina (N-H).

Gugus fungsi yang ditunjukkan tersebut menandakan adanya gugus fungsi yang dimiliki konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab.

Pengembangan agen theranostic dari konjugat  $^{198}\text{AuNP}$ -PAMAM G4-Nimotuzumab masi terus perlu dikembangkan, mengingat besarnya kemampuan konjugat tersebut yang bersifat lebih efisien yang dapat berperan sebagai agen diagnosa pada penggunaan SPECT-CT scan dan sebagai agen terapi kanker tertarget. Dalam penelitian ini masih memiliki keterbatasan dalam mengimplementasikan kemampuan terapi kanker dari konjugat tersebut. Diharapkan pengembangan penelitian selanjutnya dapat melanjutkan pada tahapan implementasi kemampuan diagnose dan terapi dari konjugat  $^{198}\text{AuNP}$ -PAMAM G4-Nimotuzumab.

## KESIMPULAN

Konjugat nanopartikel emas radioaktif ( $^{198}\text{AuNP}$ )-PAMAM G4-Nimotuzumab serta konjugat nanopartikel emas (AuNP)-PAMAM G4-nimotuzumab sebagai calon *agen theranostic* telah berhasil dibuat dan dapat dianalisis. Total klirens setelah hari ke 7 pengamatan diperoleh sekitar 47,38 % dari konjugat AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab telah diekskresikan melalui urin dan feces. Ekskresi konjugat terjadi melalui urin sebanyak 18,26 % dan feces 29,11 %. Konjugat nanopartikel emas (AuNP)-PAMAM G4-nimotuzumab dapat dianggap masih berbentuk konjugat dalam hasil ekskresi urin dengan analisis SDS PAGE, analisis spectrum dengan Spektrofotometer UV-Vis, dan analisis gugus fungsi dengan FTIR.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Radioisotop & Radiofarmaka, Kepala Bidang Radiofarmaka (Ibu Dra. Siti Darwati M.Sc.), kelompok Sintesa dan Preparasi, dan kelompok lain di Bidang Radiofarmaka-Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka, BATAN yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, N., Fessi, H., & Elaissari, A., 2012, Theranostic applications of nanoparticles in cancer. *Drug Discovery Today*, 17 (17): 928–934.
- Esumi, K., Suzuki, A., Yamahira, A. & Torigoe, K., 2003, Role of Poly(amidoamine) Dendrimers for Preparing Nanoparticles of Gold, Platinum and Silver, *Langmuir*, 16 (6): 2604-2608.
- Food and Drug Administration (FDA), 2010, The Radioactive Drug Research Committee: Human Research Without an Investigational New Drug Application, Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD, USA, 16.
- Gunawan, A. H., Pujianto, A., Maskur, Herlan S. & Rien R., 2014, Karakterisasi Senyawa Pengkontras Ct-Scan Terarah Aunp-PAMAM G4-Nimotuzumab Melalui Simulasi Menggunakan  $^{198}\text{AuNP}$ -PAMAM G4-Nimotuzumab, *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 16 (1), 1-6.
- Gunawan, A. H., Pujianto, A., Mutalib, A., S. A. Rista, L. Indrariansi, R. Rien, Y. M. Iyus, S. Herlan, 2016, Profil Distribusi dan Klirens Pengkontras CT SCAN AuNP-PAMAM G4-Nimotuzumab disimulasikan menggunakan Senyawa  $^{198}\text{AuNP}$ -PAMAM G4-Nimotuzumab, *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1): 37-43.
- Humani, T. S., Martoprawiro, M. A., & Mutalib, A., 2015, Temperature and Stretching Effects on Complementarity Determining Regions (CDRs) Conformation and Stability of Nimotuzumab F(ab)-Fragment, *Atom Indonesia*, 41(1): 17–25.
- Lestari, W., Susilo, V. Y., Setiyowati, S., Ariyanto, A., & Widayati, P., 2012, Synthesis of Sulochrin-  $^{125}\text{I}$  and Its Binding Affinity as  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor using Radioligand Binding Assay (RBA) Method, *Atom Indonesia*, 38 (3): 22–26.
- Nanjwade, B. K., Bechra, H. M., Derkar, G. K., Manvi, F. V., & Nanjwade, V. K., 2009, Dendrimers :



- Emerging polymers for drug-delivery systems, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38(3):185-96.
- Phillips, W. T., Ande, B., Andrew, J. B., & Beth A. G., 2015, Image-Guided Interventional Therapy For Cancer With Radiotherapeutic Nanoparticles, *Adv Drug Delivery*, 76: 39–59.
- Ramli, M., Hidayat, B., Rustendi, C. T., Subur, M., Ardiyatno, C. N., Karyadi, K., Masjhur, J. S., 2012, In Vitro and In Vivo Testing of  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Nimotuzumab, a Potential Radioimmunotherapeutical Agent of Cancers. *ITB Journal of Sciences*, 44(4): 333–345.
- Setiawan, H., Pujiyanto, A., Lubis Hotman, Mujinah, Kurniasih, H., & Rien Ritawidya, A. M., (2012, Pembuatan Larutan  $^{198}\text{AuCl}_4$  Dari Logam Emas, *Prosiding Pertemuan Dan Presentasi Ilmiah - Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi Nuklir*, 1–7.
- Sutriyo, 2015, Pembuatan dan Karakterisasi Konjugat Nanopartikel Emas Radioaktif ( $^{198}\text{Au}$ )-Dendrimer Poliamidoamin Generasi 4-Nimotuzumab Sebagai Agen Theranostic. *Disertasi*. Universitas Indonesia.
- Sutriyo, Mutalib, A., Ristaniah, Anwar, E., Radji, M., Pujiyanto, A., Adang, H. G., 2015, Synthesis of Gold Nanoparticles with Polyamidoamine (PAMAM) Generation 4 Dendrimer as Stabilizing Agent for CT Scan Contrast Agent, *Macromolecular Symposia*, 353(1): 96–101.

