

EVALUATION OF THE TOXICITY OF HERBAL MEDICINES WITH THE COMBINATION OF BOVINE SERUM ALBUMIN NANOPARTICLES AND FOLIC ACID AS A CANCER TREATMENT CANDIDATES

Ersalina Nidianti, Wieke Sri Wulan, Rizka Amalia

Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya, Jl. Raya Jemursari No.57, Surabaya

Corresponding author: Ersalina Nidianti (ersalidanidianti@unusa.ac.id)

ARTICLE HISTORY

| Received: 10 November 2020

| Revised: 28 December 2020

| Accepted: 4 January 2021

Abstract

Cancer is a non-communicable disease that causes morbidity and mortality in all regions of the world. Cancer mortality which continues to increase every year is one of the biggest challenges for the world of health. There were 18.1 million new cases of cancer in Indonesia in 2018 with a death rate of 9.6 million cases of cancer deaths. One of the cancer treatments is to use herbal medicine. However, these drugs have toxic side effects if consumed in certain doses and times. In order to minimize the resulting toxic effects and optimize the drug delivery system, in this study a cancer treatment from herbal plants was developed in combination with bovine serum albumin (BSA) nanoparticles and folic acid to increase solubility, bioavailability and hopefully reduce the toxicity effect in cancer therapy and as an alternative combination of cancer treatment in the future. The herbal cancer drug in combination with the nanoparticles Bovine Serum Albumin and Folic Acid has a low toxicity range. The results of the LC₅₀ probit analysis showed that NP-BSA-Oh had a higher concentration (69.23 ppm) compared to As-NP-BSA-Oh (56.56 ppm). Folic acid is able to reduce the toxicity of cancer drugs and can be used as a candidate drug in cancer therapy.

Key words: BSA Nanoparticles, Drug Toxicity

EVALUASI TOKSISITAS OBAT HERBAL DENGAN KOMBINASI NANOPARTIKEL BOVINE SERUM ALBUMIN DAN ASAM FOLAT SEBAGAI KANDIDAT PENGOBATAN KANKER

Abstrak

Kanker adalah penyakit tidak menular yang menyebabkan morbilitas dan mortalitas di seluruh wilayah dunia. Mortalitas penyakit kanker yang terus meningkat setiap tahunnya menjadi satu tantangan terbesar bagi dunia kesehatan. Kasus penyakit kanker di Indonesia pada tahun 2018 terdapat 18,1 juta kasus baru dengan angka kematian sebesar 9,6 juta kasus kematian karena penyakit kanker. Salah satu pengobatan kanker adalah dengan menggunakan obat herbal. Akan tetapi obat tersebut memiliki efek samping yang bersifat toksik jika dikonsumsi dalam dosis dan waktu tertentu. Untuk meminimalisir efek toksik yang dihasilkan dan mengoptimalkan sistem pengiriman obat maka dalam penelitian ini

dikembangkan pengobatan kanker dari tanaman herbal yang dikombinasi dengan nanopartikel bovine serum albumin (BSA) dan asam folat untuk meningkatkan kelarutan, bioavailabilitas dan diharapkan mampu menurunkan efek toksisitas dalam terapi kanker dan sebagai alternative kombinasi pengobatan kanker dimasa depan. Obat herbal kanker yang dikombinasi dengan nanopartikel Bovine Serum Albumin dan Asam Folat memiliki range toksisitas rendah. Hasil analisis probit LC_{50} diperoleh NP-BSA-Oh memiliki konsentrasi yang lebih tinggi (69.23 ppm) dibandingkan dengan As-NP-BSA-Oh (56.56 ppm). Asam folat mampu menurunkan toksisitas obat kanker dan dapat digunakan sebagai kandidat obat dalam terapi kanker.

Kata kunci: Nanopartikel BSA, Toksisitas obat.

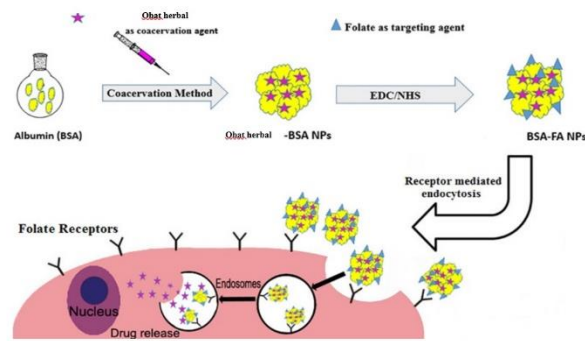
Pendahuluan

Kanker adalah penyakit tidak menular yang paling mengerikan di seluruh dunia dalam hal morbiditas dan mortalitas.¹ Mortalitas penyakit kanker yang terus meningkat setiap tahunnya menjadi satu tantangan terbesar bagi dunia kesehatan di seluruh dunia.² Berdasarkan data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia di tahun 2018 terdapat 18,1 juta kasus baru dengan angka kematian sebesar 9,6 juta kasus kematian karena penyakit kanker.³

Penyebab kanker tidak sepenuhnya diketahui secara pasti. Tetapi kanker terjadi karena adanya perubahan genetik/mutasi genetik dari sel normal menjadi sel kanker.¹ Pengobatan terhadap kanker telah dilakukan secara intensif yaitu dengan pembedahan, kemoterapi, radioterapi maupun imunoterapi. Pengobatan tersebut efektif untuk membunuh sel kanker akan tetapi memiliki kelemahan yaitu menimbulkan target obat yang tidak spesifik, meningkatkan multi drug resisten (MDR) bagi pasien penderita kanker, serta dapat mempengaruhi sel normal bagi pasien.⁴

Penelitian mengenai pengobatan kanker dari tanaman herbal terus mengalami kemajuan dalam bidang klinis. Pengobatan herbal sebagai solusi alternatif penurunan toksisitas dan kerusakan sel normal bagi pasien kanker. Pengobatan kanker yang efektif berdasarkan pendekatan kombinasi terapi yaitu dengan menggunakan obat-obatan herbal maupun kombinasi obat-obatan kimia untuk meminimalisir terjadinya komplikasi.⁵ Tanaman herbal memiliki kelarutan dan bioavailabilitas dalam bidang farmasi yang rendah. Sistem nanopartikel sebagai solusi alternatif untuk pengiriman obat/*drug delivery* serta bioavailabilitas dalam bidang biomedis dan farmasi.⁶

Nanopartikel pada penelitian ini berbasis BSA (Bovine Serum Albumin) yaitu nanopartikel yang berasal dari protein albumin yang memiliki sifat antara lain selektifitas dalam *drug delivery*, biodegradasi, tidak beracun, aman, mudah dimurnikan serta dapat larut dalam air. Akhir-akhir ini peneliti melakukan penelitian jalur target makromolekul pada sel kanker dengan reseptor asam folat. Nanopartikel Bovine Serum Albumin (BSA) dikombinasi dengan asam folat. Asam folat merupakan ligan alami dalam vitamin (B9) yang penting untuk proliferasi sel, biosintesis DNA dan metabolisme, untuk lebih detailnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Nanopartikel Bovine Serum Albumin (BSA) dan Asam Folat⁶

Beberapa laporan telah menunjukkan bahwa makromolekul asam folat telah berhasil sebagai agen terapi antikanker yang menunjukkan adanya peningkatan dalam pengiriman obat.⁶ Pada penelitian ini dilakukan evaluasi toksisitas obat herbal kanker yang dijual secara umum kemudian dikombinasi dengan menggunakan nanopartikel Bovine Serum Albumin (BSA) dan asam folat sebagai pengobatan kanker. Tujuan penelitian yaitu: Untuk mengetahui tingkat toksisitas obat herbal kanker yang dikombinasi dengan menggunakan nanopartikel Bovine Serum Albumin (BSA) dan asam folat. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina leach* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Serta untuk mengetahui sifat fisiko kimia obat herbal kanker dengan nanopartikel Bovine Serum Albumin (BSA) dan asam folat meliputi: karakteristik Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer FT-IR, Defraktometer Sinar X (XRD).

Metode

Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian: alat-alat gelas (pyrex), neraca analitik (Ohaus Spx422 Scout Portable Balance), magnetik stirer, alat untuk karakterisasi meliputi Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), FT-IR (Shimadzu IR Prestige-21), Defraktometer Sinar X (XRD) (PANalytical, X'Pert Pro).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian: Obat herbal kanker (Cancer Fit), larutan Bovine Serum Albumin (BSA), larutan Phosphat Buffer Saline (PBS), Aquabidest, Aseton, larutan asam askorbat NaCl, larva *A. Salina*, Etanol dan pelarut lainnya.

Prosedur

1. Sintesis Nanopartikel Bovine Serum Albumin (BSA) dengan Obat herbal kanker

Metode pembuatan nanopartikel BSA dengan Obat herbal kanker dilakukan melalui penambahan 0,2 gram BSA kedalam aquabidest 3,2 ml dilakukan pengadukan pada suhu kamar selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 6,4 ml larutan obat herbal (12 mg obat herbal dalam 1 ml aseton). Ditambahkn secara tetes demi tetes pada suhu kamar dan dalam keadaan gelap. Ditambahkan 4 mg asam askorbat dan diaduk selama 2 jam. Kemudian dilakukan sentrifuse 18.000 rpm selama 15 menit sebanyak 3 kali dan dicuci dengan menggunakan aquabidest kemudian dikeringkan semalam. Nanopartikel BSA disintesis dengan prosedur yang sama tanpa penambahan obat herbal kanker.

2. Preparasi Asam folat dengan Nanopartikel BSA – Obat herbal

Nanopartikel BSA-Obat herbal dari prosedur sebelumnya. Kemudian di konjugasi dengan asam folat pada permukaan nanopartikel BSA dilakukan dengan penambahan asam folat (27 mg), asam askorbat (58,6 mg) dan larutan asam askorbat (35,2 mg) ditambahkan DMSO sebagai pelarut. Larutan direaksikan dengan cara pengadukan (stirrer) selama 30 menit dan dilindungi menggunakan aluminium foil. Larutan asam folat ditambahkan dengan cara penambahan tetes demi tetes ke dalam larutan nanopartikel BSA – Obat herbal hingga pH 8,5. Untuk mereaksikan disimpan selama semalam dan dilakukan pengadukan (stirrer) pada suhu kamar. Pemurnian dilakukan menggunakan sentrifugasi 20.000 rpm selama 10 menit, untuk menghilangkan asam folat yang tidak terkonjugasi. Kemudian dilakukan proses pengeringan pada produk tersebut.

3. Karakterisasi dengan menggunakan XRD

Sampel yang akan dianalisis dimasukkan kedalam plat aluminium ukuran 2x2 cm, plat aluminium yang berisi sampel dikarakterisasi menggunakan XRD dengan sumber Cu-Ka1 mengatur panjang gelombang serta sudut difraksi 2θ . Untuk interpretasi grafik menggunakan bantuan *software Match*.

4. Karakterisasi dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk karakterisasi dan penentuan kuantitatif nanopartikel BSA – Obat herbal. Analisis Spektrofotometri UV-Vis dilakukan pada suhu 25 °C dengan kisaran 200-400 nm.

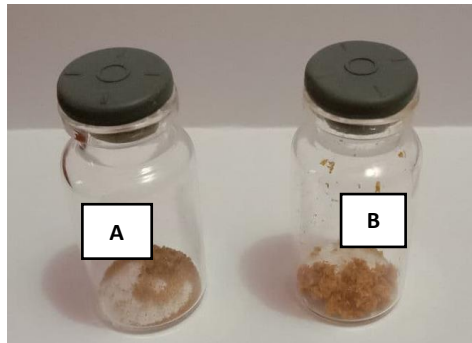
5. Karakterisasi dengan menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Struktur kimia sampel diketahui melalui Spektroskopi Fourier Transformasi Inframerah (FT-IR) (Bruker, Tensor 27). Disk standar adalah dikumpulkan dengan mencampur 2 mg sampel dengan 200 mg medium KBr dan penggiling menjadi bubuk halus dan kemudian mengompres hasilnya bubuk menjadi pelet transparan (tekanan, 12 Ton). Spektra FT-IR direkam menggunakan panjang gelombang 400 hingga 4000 cm^{-1} .

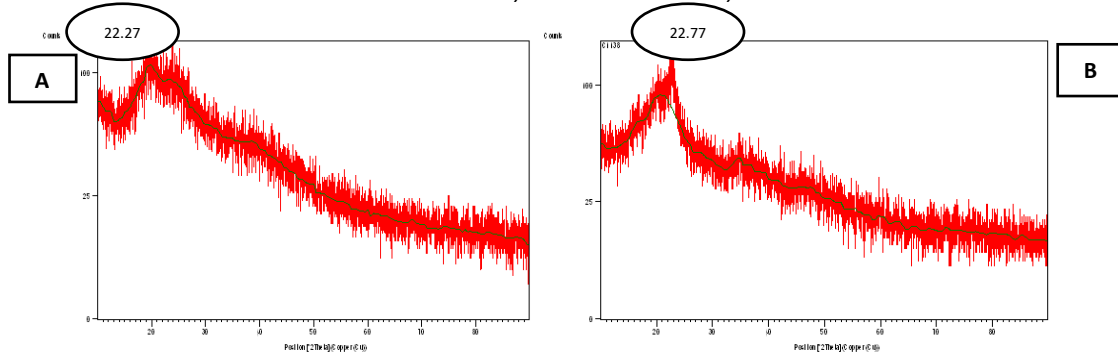
6. Uji Toksisitas Metode BSLT

- A. Telur *Artemia* 0.5 g ditetaskan dalam media air laut (35% kadar garam), bersirkulasi udara yang baik dan pencahayaan yang terang dan suhu 24-26 °C. Setelah 12- 48 jam telur menetas, salinitas dikurangi hingga 5%, untuk uji BSLT, tidak boleh umur 7 hari dan tidak boleh kurang dari 3 hari. untuk senyawa murni dibuat konsentrasi 1, 10 dan 100 ppm
- B. Siapkan 10 vial (tabung reaksi) yang masing-masing diisi dengan 5 ml air laut dan 5 ml larutan sampel dengan konsentrasi yang divariasasi serta 10 ekor *A. salina*. Lakukan juga untuk kontrol dengan pelarut (etanol atau DMSO). Waktu kontak dilihat $\frac{1}{2}$ jam hingga 6 jam, selanjutnya perjam atau 6 jam, 12 jam dan 24 jam. Replikasi sebaiknya 10 X, supaya deviasinya lebih baik, hitung LC_{50} dengan SPSS.
- C. Karena *Artemia* langsung kontak dengan sampel, maka dapat diketahui jumlah *Artemia* yang hidup dan jumlah yang mati,
Evaluasi: % kematian = $[A-B/C] \times 100\%$, dimana
A = jumlah *Artemia salina* yang mati akibat kontak dengan sampel
B = jumlah *Artemia salina* yang mati pada kontrol
C = jumlah *Artemia salina* awal

Hasil



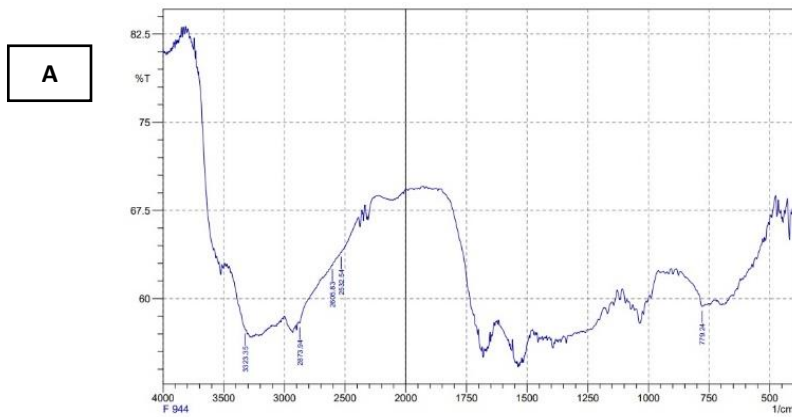
Gambar 2. Hasil Sintesis A.) NP-BSA-Oh B.) As- NP-BSA-Oh



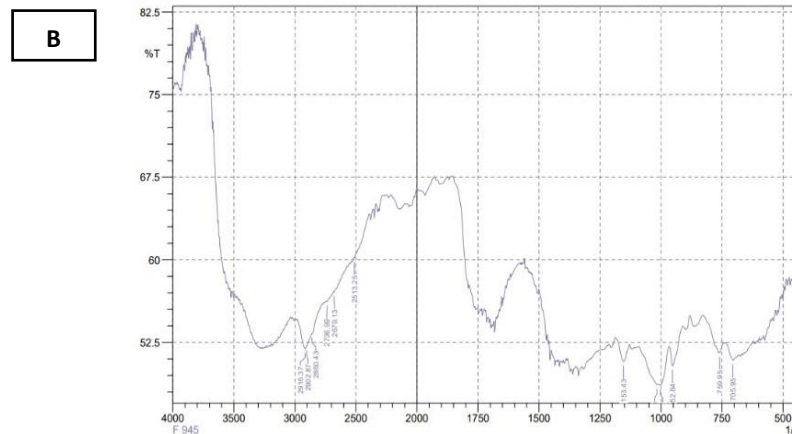
Gambar 3. Spektrum pola difraksi A) Hasil XRD NP-BSA-Oh B.) As- NP-BSA-Oh

Tabel 1. Hasil Analisis Spektrofotometer UV-Vis pada NP-BSA-Oh dan As-NP-BSA-Oh

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi NP-BSA-Oh	Absorbansi As- NP-BSA-Oh
200	1.382	3.131
210	0.752	3.376
220	0.475	3.461
230	0.597	4.009
240	1.125	3.739
250	1.816	3.701
260	2.314	3.738
270	2.261	3.441
280	1.719	3.326
290	0.908	1.847
300	0.338	0.779
310	0.118	0.412
320	0.072	0.290
330	0.064	0.232
340	0.060	0.209
350	0.055	0.191
360	0.047	0.175
370	0.039	0.163
380	0.032	0.147
390	0.027	0.131



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	779.24	59.318	0.362	844.82	771.53	15.881	0.023
2	2532.54	63.901	0.097	2536.39	2391.73	26.778	0.113
3	2605.83	62.848	0.034	2607.76	2538.32	13.744	0.007
4	2873.94	57.91	0.241	2879.72	2802.57	17.634	0.018
5	3323.35	57.365	0.164	3415.93	3319.49	22.054	0.198



	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	705.95	50.871	0.948	734.88	684.73	14.49	0.198
2	759.95	51.55	1.413	825.53	744.52	22.35	0.462
3	952.84	50.379	2.191	966.34	910.4	15.902	0.514
4	1002.98	48.616	0.561	1008.77	968.27	12.233	0.196
5	1016.49	48.66	0.197	1091.71	1012.63	23.687	0.124
6	1153.43	50.759	1.813	1186.22	1130.29	16.03	0.43
7	2513.25	60.168	0.066	2515.18	2389.8	26.049	0.178
8	2679.13	57.074	0.068	2681.05	2573.04	25.382	0.045
9	2736.99	56.216	0.092	2740.85	2682.98	14.297	0.03
10	2860.43	53.292	0.077	2862.36	2769.78	24.148	0.024
11	2902.87	52.165	0.066	2904.8	2862.36	11.793	0.012
12	2916.37	51.909	0.585	2981.95	2906.73	20.716	0.198

Gambar 3. Hasil Analisis FT-IR NP-BSA-Oh B.) As- NP-BSA-Oh

Tabel 2. Kategori toksisitas

Kategori	LC ₅₀ (ppm)
Sangat Toksik	< 30
Toksik	30-1000
Tidak Toksik	> 1000

Tabel 3. Data hasil uji toksisitas metode BSLT

Sampel	Konsentrasi	Jumlah Larva Mati (Ekor)			Rata	Mortalitas (%)
		Replikasi				
		1	2	3		
Kontrol	Etanol	0	0	0	0	0
NP-BSA-Oh	1	1	1	2	1,3	13
	10	2	1	3	2,0	20
	100	3	1	3	2,3	23
As-NP-BSA-Oh	1	3	2	3	2,7	27
	10	3	3	4	3,3	33
	100	4	3	4	3,7	37

Pembahasan

Hasil Sintesis Nanopartikel Bovine Serum Albumin – Obat herbal kanker (NP-BSA-Oh), Asam folat dengan Nanopartikel BSA – Obat herbal (As- NP-BSA-Oh)

Nanopartikel yang terdapat pada obat kanker bertujuan untuk meningkatkan bioavailabilitas, sistem pengiriman obat (*drug delivery*), memperbaiki target obat dan release obat ke sel kanker. Sehingga diharapkan dapat meningkatkan efikasi dan mengurangi efek samping.⁷ Bovine Serum Albumin (BSA) memiliki berat molekul 69,323 Da dan pH isoelektrik 4,7 dalam air pada suhu 25 °C. Secara luas Bovine Serum Albumin (BSA) digunakan untuk pengiriman obat (*drug delivery*) karena status medisnya, biaya murah, mudah untuk dimurnikan dan sifat yang dimiliki dapat diterima dalam industri biomedis.⁶

Preparasi nanopartikel Bovine Serum Albumin (BSA) dan obat herbal kanker dilakukan dengan metode desolvasi (yaitu teknik pembuatan nanopartikel berdasarkan perbedaan kelarutan antara *desolvating agent* dengan pelarut air yang bercampur dengan BSA). Kelarutan BSA dalam air tinggi bila ditambahkan *desolvating agent*/pelarut pendesolvasi seperti (etanol, aseton, dan DMSO) dalam penelitian ini digunakan agen desolvasi yaitu aseton sehingga membentuk agregat dari BSA. Preparasi asam folat nanopartikel BSA Obat herbal dilakukan dengan melanjutkan prosedur nanopartikel BSA Obat herbal yang terbentuk dan dilakukan penambahan *crosslinker* yaitu asam folat yang didasarkan pada karakteristik fisiko kimia.⁸

Hasil Analisis XRD

Analisis XRD bertujuan untuk mengetahui karakteristik kristal nanopartikel yang telah disintesis. Analisis XRD dilakukan untuk menganalisis indeks kristalin. Pengindeks diartikan sebagai penentuan dimensi sel unit melalui posisi peak yang dihasilkan. Dalam analisis XRD penelitian ini menggunakan 2θ dengan sudut 10° - 90° untuk semua jenis sampel.⁹

Hasil Analisis Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga Spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan analisis kualitatif.¹⁰ Spektra UV-Vis diukur dengan menggunakan spektrofotometer *genesys* UV-Vis. Diperoleh hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dari Panjang gelombang 200-400 nm diperoleh absorbansi maksimum sebesar 4.009 pada panjang gelombang 230 nm untuk As-NP-BSA-Oh dan diperoleh absorbansi maksimum sebesar 2.314 pada panjang gelombang 260 nm untuk NP-BSA-Oh.

Hasil Analisis FT-IR

Analisis FT-IR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam hasil sintesis nanopartikel antara Bovine Serum Albumin (BSA), Asam folat dan obat herbal kanker. Profil analisis Spektra FT-IR dapat dilihat pada gambar 3.

Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina leach* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Toksistas (*toxicity*) merupakan ukuran relatif derajat racun antara satu bahan kimia terhadap bahan kimia lainnya pada organisme yang sama kemampuan racun (molekul) untuk menimbulkan kerusakan apabila masuk kedalam tubuh dan lokasi organ yang rentan terhadapnya. Toksistas dapat diartikan sebagai kemampuan suatu zat untuk menimbulkan kerusakan pada organisme hidup. Uji toksistas terhadap larva udang *Artemia salina leach* dapat digunakan uji pendahuluan pada penelitian uji sitotoksik. Korelasi antara uji toksistas akut ini dengan uji sitotoksik adalah jika mortalitas terhadap *Artemia salina leach* yang ditimbulkan memiliki nilai $LC_{50} \leq 1000 \mu\text{g/ml}$. Prosedur uji toksistas telur *Artemia Salina* (*A. salina*) 0.5 g ditetaskan dalam media air laut (35% kadar garam), bersirkulasi udara yang baik dan pencahayaan yang terang dan suhu 24-26 °C. Setelah 12-48 jam telur menetas, salinitas dikurangi hingga 5% untuk uji BSLT, tidak boleh umur 7 hari dan tidak boleh kurang dari 3 hari. Untuk senyawa murni dibuat konsentrasi 1, 10 dan 100 ppm.¹¹

Disiapkan beberapa vial (tabung reaksi) yang masing-masing diisi dengan 5 ml air laut dan 5 ml larutan sampel dengan konsentrasi (1, 10, 100 ppm) serta 10 ekor *A. salina*. Lakukan hal yang sama untuk kontrol dengan pelarut (etanol atau DMSO). Waktu kontak dilihat 1 jam hingga 6 jam. Replikasi dilakukan sebanyak 3X, hitung nilai LC_{50} dengan SPSS. Karena *A. salina* langsung kontak dengan sampel, maka dapat diketahui jumlah *A. salina* yang hidup dan jumlah yang mati, berdasarkan rumus

Evaluasi:

$$\% \text{Kematian} = \frac{\text{Total kematian } A. \text{salina} - \text{Kontrol}}{\text{Total larva hewan coba}} \times 100$$

Berdasarkan tabel 3 uji toksistas dengan metode BSLT dilakukan analisis probit dengan menggunakan SPSS diperoleh informasi nilai LC_{50} dari NP-BSA-Oh adalah 69.23 ppm. Sedangkan hasil analisis probit dengan menggunakan SPSS nilai LC_{50} dari As-NP-BSA-Oh yaitu 56.56 ppm. Menurut Meyer¹¹, bahwa suatu zat menunjukkan aktivitas toksik dalam uji toksistas jika zat tersebut dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi < 1.000 ppm. Dari data LC_{50} diperoleh bahwa NP-BSA-Oh memiliki konsentrasi yang lebih tinggi (69.23 ppm) dibandingkan dengan As-NP-BSA-Oh (56.56 ppm). Asam folat mampu menurunkan toksistas obat kanker.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa obat herbal kanker yang dikombinasi dengan nanopartikel Bovine Serum Albumin dan Asam Folat memiliki range toksistas rendah dan dapat digunakan sebagai kandidat obat dalam terapi kanker.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya yang sudah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Rahmani AH, Al Zohairy MA, Aly SM, Khan MA. Curcumin: A Potential Candidate in Prevention of Cancer via Modulation of Molecular Pathways. *Biomed Res Int*. 2014;2014(Figure 1).
2. Kashyap D, Tuli HS, Yerer MB, Sharma A, Sak K, Srivastava S, et al. Natural product-based nanoformulations for cancer therapy: Opportunities and challenges. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2019;(June):1–19. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.014>
3. Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar. Kementerian Kesehatan Republik Indones [Internet]. 2018;1–100. Available from: <http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/hasil-risikesdas-2018.pdf>
4. Mutiah R, Suryadinata A, Nurani PS. Uji Sitotoksitas Kombinasi Cisplatin Dengan Ekstrak Etanol Benalu Aalpuakat (*Dendrophthoe pentandra* (L) Miq.) Pada Sel Hela. *Maj Kesehat*. 2018;5(3):133–43.
5. Parhi P, Mohanty C, Sahoo SK. Nanotechnology-based combinational drug delivery: An emerging approach for cancer therapy. *Drug Discov Today* [Internet]. 2012;17(17–18):1044–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2012.05.010>
6. Nosrati H, Abbasi R, Charmi J, Rakhshbahar A, Aliakbarzadeh F, Danafar H, et al. Folic acid conjugated bovine serum albumin: An efficient smart and tumor targeted biomacromolecule for inhibition folate receptor positive cancer cells. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2018;117:1125–32. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.026>
7. Maukar MA, Runtuwene MRJ, Pontoh J. Analisis Kandungan Fitokimia Dari Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Soyogik (*Sauraula bracteosa* DC) Dengan Menggunakan Metode Maserasi. *J Ilm Sains*. 2013;13(2):98.
8. Ambarwati R. Pembuatan Nanopartikel Albumin Menggunakan Metode Desolvasi Sebagai Alternatif Sistem Pembawa. *FITOFARMAKA J Ilm Farm*. 2019;9(1):35–9.
9. Abdullah AM, Khalil KA. Properties of Novel Double Layer Nanocomposite Electrospun Fibers for Wound Dressing Applications. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:2205–13.
10. Kartika GF. Analisis Spektroskopi UV-Vis Penentuan Konsentrasi Permanganat. 2020;(June).
11. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 1982;45(1):31–4.