

**SYNTHESIS GRAPHENE-BASED MATERIALS MODIFIED WITH
GOLD NANOPARTICLES, ZINC OXIDE, AND NICLOSAMIDE:
SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTIOXIDANT,
ANTIBACTERIAL, CYTOTOXIC, AND ANTIVIRAL ACTIVITIES
AGAINST DENGUE VIRUS SEROTYPE 3 (DENV-3)**

**PANDJI ZAMZAMI FATHURROHMAN
22/507073/SPA/00886**

ABSTRACT

Graphene-based materials, including reduced graphene oxide (rGO) and graphene oxide (GO), possess considerable potential in biomedical applications due to their tunable physicochemical properties, which allow surface modification with metal nanoparticles or therapeutic molecules. This study presents the synthesis of nanocomposites composed of GO modified with gold nanoparticles (GO-Au and rGO-Au), zinc oxide (GO-Zn and rGO-Zn), and niclosamide (GO-Nic). The synthesized materials, including GO, GO-Au, rGO-Au, GO-Zn, rGO-Zn, and GO-Nic, were characterized using UV-Vis spectroscopy, FTIR, Raman spectroscopy, XRD, SEM-EDX, TEM, HR-TEM, and XPS. These nanomaterials were further evaluated for their antioxidant, antibacterial, cytotoxic, and antiviral activities, particularly against dengue virus serotype 3 (DENV-3).

The synthesized GO-Au and rGO-Au nanocomposites contained ultrasmall gold nanoparticles (AuNPs) with an average diameter of less than 10 nm. In contrast, the preparation of GO-Zn and rGO-Zn nanocomposites led to the formation of large zinc oxide (ZnO) particles, exceeding 200 nm in size. Additionally, the produced GO-Nic hybrid incorporated 12.4% niclosamide onto the GO sheets.

Comprehensive assays revealed that GO-based materials generally exhibited superior bioactivity, including antioxidant, antibacterial, and antiviral activities, compared to their reduced counterparts, particularly in the case of GO Au and rGO Au. Both nanocomposites demonstrated enhanced antibacterial activity against *E. coli* (a Gram-negative bacterium) and *S. aureus* (a Gram-positive bacterium) compared to unmodified GO. Specifically, the GO Au nanocomposite exhibited stronger antibacterial performance against *E. coli*, with an inhibition rate of 52.5% compared to 42.7% for rGO Au at 100 µg/mL. Conversely, rGO Au was more effective against *S. aureus*, achieving a growth inhibition rate of 98.7%, compared to 59.6% for GO Au.

GO-Au and rGO-Au nanocomposites also demonstrated radical scavenging activity in both DPPH and ABTS assays. At a concentration of 200 µg/mL, GO-Au achieved 74.6% and 49.1% inhibition in DPPH and ABTS assays, respectively, while rGO-Au reached 55.2% and 47.0%. The IC₅₀ values for GO-Au were also lower, with 98.5 µg/mL for DPPH and 202.8 µg/mL for ABTS, compared to rGO-Au, which showed values of 208.7 µg/mL and 150.4 µg/mL, respectively. GO and rGO-Au were classified as moderate antioxidants, while GO-Au was categorized

as an active antioxidant. These findings indicate a stronger antioxidant potential for GO-Au.

In antiviral evaluations, GO-Au and GO-Zn showed slightly more effective antiviral performance against DENV-3 than rGO-Au and rGO-Zn. GO-Au effectively reduced DENV-3 RNA levels to 4.0% in pre-treatment, 4.4% in post-treatment, and 14.9% in co-treatment modes at 5 µg/mL, with no observed cytotoxicity up to 50 µg/mL. GO-Zn at 5 µg/mL also demonstrated moderate viral inhibition, ranging from 10.1 to 12.0% in pre-, post-, and co-treatment modes. On the other hand, GO-Nic showed strong antiviral activity at an extremely low concentration, reducing viral RNA to 38.5% at just 0.02 µg/mL.

Cytotoxic evaluation showed that the toxicity of unmodified GO and GO-Au was not observed until 50 µg/mL, while GO-Nic was the most toxic, causing complete cell death even at 0.5 µg/mL. The order of cytotoxicity level from the least toxic as follows: GO and GO-Au < rGO-Au < rGO-Zn < GO-Zn < GO-Nic.

In conclusion, GO-based materials consistently exhibited superior bioactivity in antioxidant, antibacterial, and antiviral evaluations compared to rGO derivatives. This superiority is attributed to the presence of oxygen-containing functional groups, which enhance aqueous dispersibility, promote biological interactions, and prevent the formation of visible aggregates. Among the tested materials, GO-Au emerged as the most effective, as the incorporation of ultrasmall AuNPs significantly amplified its bioactivity while maintaining negligible cytotoxicity. This finding highlights the synergistic effect of surface oxygen functionalities and AuNP modification as a critical factor in enhancing the biological performance of graphene oxide nanomaterials.

Keywords: antibacterial, antioxidant, antiviral, graphene oxide, nanoparticles, niclosamide

**SINTESIS MATERIAL BERBASIS GRAFENA YANG DIMODIFIKASI
DENGAN NANOPARTIKEL EMAS, SENG OKSIDA, DAN
NICLOSAMIDE: SINTESIS DAN EVALUASI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN, ANTIBAKTERI, SITOTOKSIK, DAN ANTIVIRUS
TERHADAP VIRUS DENGUE SEROTIPE 3 (DENV-3)**

**PANDJI ZAMZAMI FATHURROHMAN
22/507073/SPA/00886**

INTISARI

Material berbasis grafena, termasuk oksida grafena (GO) dan oksida grafena tereduksi (rGO), memiliki potensi besar dalam aplikasi biomedis karena sifat fisikokimianya yang dapat disesuaikan, sehingga memungkinkan modifikasi permukaan dengan nanopartikel logam atau molekul terapeutik. Penelitian ini menyajikan sintesis nanokomposit yang terdiri dari GO yang dimodifikasi dengan nanopartikel emas (GO-Au dan rGO-Au), seng oksida (GO-Zn dan rGO-Zn), serta niclosamide (GO-Nic). Material yang disintesis berupa GO, GO-Au, rGO-Au, GO-Zn, rGO-Zn, dan GO-Nic, dikarakterisasi menggunakan spektroskopi UV-Vis, FTIR, Raman, XRD, SEM-EDX, TEM, HR-TEM, dan XPS. Nanomaterial tersebut selanjutnya dievaluasi aktivitas antioksidan, antibakteri, sitotoksik, dan antivirusnya, khususnya terhadap virus dengue serotipe 3 (DENV-3).

Nanokomposit GO-Au dan rGO-Au hasil sintesis memiliki nanopartikel emas (AuNPs) ultra kecil dengan diameter rata-rata kurang dari 10 nm. Sebaliknya, proses pembuatan nanokomposit GO-Zn dan rGO-Zn menghasilkan pembentukan partikel seng oksida (ZnO) yang cukup besar, dengan ukuran melebihi 200 nm. Selain itu, hibrida GO-Nic yang dihasilkan berhasil menginkorporasi 12,4% niklosamida pada lembaran GO.

Uji komprehensif menunjukkan bahwa material berbasis GO secara umum memiliki bioaktivitas yang lebih tinggi, seperti aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antivirus, dibandingkan dengan bentuk yang direduksi, khususnya pada GO-Au dan rGO-Au. Kedua nanokomposit ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap *E. coli* (Gram-negatif) dan *S. aureus* (Gram-positif) dibandingkan dengan GO yang tidak dimodifikasi. Secara spesifik, nanokomposit GO-Au menunjukkan kinerja antibakteri yang lebih kuat terhadap *E. coli*, dengan tingkat inhibisi 52,5% dibandingkan dengan 42,7% untuk rGO-Au pada konsentrasi 100 µg/mL. Sebaliknya, rGO-Au lebih efektif terhadap *S. aureus*, mencapai tingkat inhibisi pertumbuhan sebesar 98,7%, dibandingkan dengan 59,6% untuk GO-Au.

Nanokomposit GO-Au dan rGO-Au juga menunjukkan aktivitas penangkap radikal dalam uji DPPH dan ABTS. Pada konsentrasi 200 µg/mL, GO-Au mencapai inhibisi sebesar 74,6% dan 49,1% pada uji DPPH dan ABTS secara berturut-turut, sedangkan rGO-Au mencapai 55,2% dan 47,0%. Nilai IC₅₀ untuk GO-Au juga lebih rendah, yaitu 98,5 µg/mL untuk DPPH dan 202,8 µg/mL untuk ABTS, dibandingkan dengan rGO-Au yang menunjukkan nilai masing-masing sebesar 208,7 µg/mL dan 150,4 µg/mL. GO dan rGO-Au dapat diklasifikasikan sebagai bahan antioksidan moderat, sementara GO-Au dikategorikan sebagai

antioksidan aktif. Temuan ini menunjukkan potensi antioksidan yang lebih kuat pada GO-Au.

Pengujian antivirus menunjukkan bahwa GO-Au dan GO-Zn memiliki kinerja yang sedikit lebih efektif terhadap DENV-3 dibandingkan dengan rGO-Au dan rGO-Zn. GO-Au mampu menurunkan kadar RNA DENV-3 hingga 4,0% pada perlakuan pra-infeksi, 4,4% pada pasca-infeksi, dan 14,9% pada perlakuan simultan pada konsentrasi 5 µg/mL, serta tanpa menunjukkan adanya toksisitas hingga 50 µg/mL. Pada konsentrasi yang sama, GO-Zn juga menunjukkan aktivitas penghambatan virus secara moderat, dengan penurunan RNA virus antara 10,1% hingga 12,0% pada ketiga mode perlakuan tersebut. Sementara itu, GO-Nic menunjukkan aktivitas antivirus yang kuat meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah, dengan penurunan RNA virus hingga 38,5% hanya pada konsentrasi 0,02 µg/mL.

Evaluasi sitotoksitas menunjukkan bahwa toksisitas dari GO tanpa modifikasi dan GO-Au tidak terdeteksi hingga konsentrasi 50 µg/mL, sedangkan GO-Nic merupakan yang paling toksik karena menyebabkan kematian sel secara total bahkan pada konsentrasi 0,5 µg/mL. Urutan tingkat sitotoksitas dari yang paling tidak toksik hingga yang paling toksik adalah sebagai berikut: GO dan GO-Au < rGO-Au < rGO-Zn < GO-Zn < GO-Nic.

Kesimpulannya, bentuk GO tak tereduksi secara konsisten menunjukkan bioaktivitas yang lebih baik dalam uji antioksidan, antibakteri, dan antivirus dibandingkan rGO. Keunggulan ini dikaitkan dengan keberadaan gugus fungsi yang mengandung oksigen pada GO, yang meningkatkan kemampuan dispersi dalam media air dan interaksi biologis, serta mencegah terbentuknya agregat material yang besar. GO-Au menunjukkan kinerja biologis yang paling baik di antara semua material yang dikaji, dikarenakan kombinasi AuNPs ultra kecil secara signifikan meningkatkan bioaktivitasnya sambil mempertahankan sitotoksitas yang sangat rendah. Hasil ini menekankan efek sinergis dari fungsionalitas permukaan oksigen dan modifikasi dengan AuNPs sebagai faktor kunci dalam meningkatkan kinerja biologis dari nanomaterial berbasis oksida grafena.

Kata kunci: antibakteri, antioksidan, antivirus, nanopartikel, niklosamida, oksida grafena