

Sintesis dan Pencirian Zarah Silika Berongga dalam Aplikasi Biosensor DNA (Synthesis and Characterization of Hollow Silica Spheres as DNA Biosensor Application)

EDA YUHANA ARIFFIN¹, LEE YOOK HENG² & SITI AISHAH HASBULLAH^{2*}

¹Chemistry Section, School of Distance Education, Universiti Sains Malaysia, 11800 USM Penang, Malaysia

²Department of Chemical Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 21 Mei 2024/Diterima: 13 Ogos 2024

ABSTRAK

Pembangunan model biosensor DNA berasaskan zarah silika berongga sebagai tapak pemegunan DNA boleh digunakan di dalam aplikasi biosensor DNA. Zarah silika berongga berjaya disintesis dan pencirian dijalankan dengan menggunakan mikroskop elektron pengimbasan pelepasan medan (FESEM), kalorimeter imbasan pembeza (DSC), penganalisis saiz zarah dan pembelauan sinar-X (XRD). Isi padu rongga, luas permukaan khusus dan penyebaran saiz rongga diukur dengan menggunakan *Micrometric ASAP 2020* melalui kaedah *Brunauer-Emmett-Teller(BET)/Barret-Joyner-Halenda(BJH)*. Surfaktan Tween 20, Triton-X dan CTAB dengan suhu dan masa tindak balas yang berbeza digunakan dalam penghasilan zarah silika berongga. Berdasarkan analisis FESEM dan BET/BJH, zarah silika berongga yang disintesis dengan menggunakan surfaktan Tween 20 pada suhu 27 °C dan tindak balas dijalankan selama 8 hari mempunyai luas permukaan yang paling besar. Zarah silika berongga ini digunakan dalam pemegunan prob DNA *E. coli* dan didapati biosensor ini menunjukkan kebolehpilihan yang tinggi terhadap DNA sasaran *E. coli*. Ini disebabkan oleh zarah silika berongga mempunyai tapak pemegunan prob DNA yang tinggi dan kadar penghibridan juga meningkat. Kajian ini sangat penting dalam menghasilkan zarah silika berongga sebagai tapak pemegun DNA bagi biosensor DNA yang dibangunkan.

Kata kunci: Biosensor DNA; pencirian; sintesis; zarah silika berongga

ABSTRACT

Development of DNA biosensor model based on hollow silica spheres as DNA immobilization sites can be used for DNA biosensor application. Hollow silica spheres were successfully synthesized and characterized using field emission scanning electron microscopy (FESEM), differential scanning calorimetry (DSC), particle size analyzer and X-ray diffraction (XRD). Hollow volume, specific surface area and hollow size distribution was measured using *Micrometer ASAP 2020* through *Brunauer-Emmett-Teller(BET)/Barret-Joyner-Halenda(BJH)* method. Tween 20 surfactant, Triton-X and CTAB with different temperature and different reaction time was used in synthesizing hollow silica spheres. Based on FESEM and BET/BJH analysis, hollow silica spheres synthesized using Tween 20 surfactant at temperature 27 °C and the reaction carried out for 8 days have the largest surface area. Hollow silica spheres was used in *E. coli* DNA probe immobilization and it was found that this biosensor showed high selectivity against *E. coli* DNA target. This is due to the hollow silica particles having high DNA probe immobilization sites and increased hybridization rates. This new finding is so valuable in making hollow silica spheres as DNA immobilisation sites for the developed DNA biosensor.

Keywords: Characterisation; DNA biosensor; hollow silica spheres; synthesis

PENGENALAN

Bahan berasaskan silika berongga dan silika mesoporos sering digunakan dalam sistem penghantaran dadah secara *in vivo* dan *in vitro* (Huang, Young & Townley 2014). Silika berongga mempunyai luas permukaan yang tinggi dan isi padu rongga yang besar yang mana ia membolehkan muatan bagi dadah (Yoncheva et al. 2014). Silika

mesoporos merupakan bahan berasaskan silikon yang mana ia mempunyai luas permukaan yang sangat tinggi dan isi padu liang yang besar dan membolehkan muatan penjerapan yang cukup. Silika mesoporos mempunyai sifat yang berfaedah seperti diameter zarah dalam julat antara 50-300 nm, saiz liang yang boleh dikawal (2-50 nm), kestabilan haba yang tinggi, kestabilan kimia, struktur

dan morfologi yang boleh dikawal pada skala nanometer dan mikrometer, struktur poros yang pelbagai seperti dua- dan tiga- dimensi struktur heksagon, kiub dan sfera, luas permukaan dan isi padu liang yang tinggi (Huang, Young & Townley 2014; Nakanishi, Tomita & Kato 2015).

Silika mesoporos/berongga boleh difungsikan dengan kumpulan organik yang berbeza (kumpulan kloropropil, fenil, benzil, merkaptopropil, sianopropil, butil) dan penambahan ini dapat meningkatkan jumlah muatan rongga (Yoncheva et al. 2014). Selain itu, permukaan silika berongga dapat difungsikan dengan agen taut silang silana organik. Pengoptimuman struktur dan pencirian permukaan bagi silika mesoporos ini digunakan sebagai penjerap. Bahan berporos dapat menyerap ion logam, pelbagai molekul dan zarah nano pada permukaannya. Nakanishi, Tomita dan Kato (2015) telah menghasilkan lembaran silika mesoporos beramina dengan proses dwi templat menggunakan N-palmitoil-L-alanin dan Pluronic 123. Rangka lembaran silika ini terhasil daripada dua sumber silika iaitu tetraetil ortosilikat (TEOS) dan (3-aminopropil) trietoksilan (APTES). Nakanishi, Tomita dan Kato (2015) menggunakan lembaran silika mesoporos beramina ini sebagai penjerap ion logam bagi mengasingkan pelbagai logam daripada sisa air.

Kajian mengenai sintesis mikrosfera tak organik berongga berkembang dengan pesat dan mendapat perhatian yang meluas (Xuefeng et al. 2004). Bahan berongga sangat menarik perhatian umum kerana aplikasinya yang meluas sebagai bahan penyokong mangkin (Morey et al. 2000), bahan penyerap gas (Okada et al. 1998), bahan penyerap ion logam berat (Lee et al. 2001), bahan pembawa tak organik (He et al. 2001) dan bahan semikonduktor zarah nano (Jain et al. 2001; Zhang et al. 2001).

Zarah silika berongga mempunyai luas permukaan yang tinggi dan saiz yang boleh dikawal. Zarah silika berongga dapat disintesis dengan pelbagai cara sintetik tetapi hanya beberapa kajian yang melaporkan mengenai sintesis larutan sfera silika berongga dengan saiz diameter rongga dalam unit mikrometer. Kaedah sintesis melibatkan pelbagai templat seperti larutan koloid, titisan emulsi dan polimer (Deng, Lettmann & Maier 2001). Terdapat kajian mengenai sintesis zarah silika berongga menggunakan vesikel lamellar tunggal sebagai templat bagi silikon oksida semasa proses hidrolisis dan kondensasi. Caruso, Caruso dan Mohwald (1998) telah mensintesis silika berongga dan sfera polimer silika dengan menggunakan cara pengkalsinan atau penguraian templat koloid. Zhang et al. (2001) telah mensintesis zarah silika berongga di dalam larutan campuran air dan etanol dan setiltrimetilammonium bromida (CTAB) bertindak sebagai templat. Zoldesi dan Imhof (2005) menghasilkan penyerakan tunggal sfera silika koloid, kapsul dan mikrobalon menggunakan titisan emulsi sebagai templat. Cara yang berbeza boleh dilakukan untuk

menghasilkan zarah sfera silika berongga yang baik. Kajian kesan suhu dan masa tindak balas ke atas morfologi bahan silika juga dijalankan. Kaedah Stöber yang telah diubah suai, digunakan untuk menghasilkan silika. Sulfaktan yang pelbagai jenis diperkenalkan di dalam sistem sintesis untuk menghasilkan silika berongga bersaiz mikrometer dengan luas permukaan yang tinggi (Carvalho, Cordeiro & Faneca 2020).

Zarah silika berongga mempunyai luas permukaan yang besar untuk pemegungan DNA dan sangat sesuai untuk meningkatkan kesensitifan biosensor DNA. Saiz DNA yang kecil sangat sesuai untuk dipegun di bahagian dalam dan luar permukaan zarah silika berongga. Pemegungan DNA di bahagian dalam dan luar permukaan zarah silika berongga akan menambahkan kesensitifan biosensor berbanding dengan zarah silika nano yang biasa (Bueno & Goshal 2020; Xin et al. 2020).

Secara amnya, tidak berlaku sebarang perubahan pada sifat fizikal dan kimia biomolekul yang terperangkap di dalam zarah silika berongga. Molekul yang terperangkap berinteraksi dengan permukaan matriks silika secara kovalen atau secara bukan kovalen (interaksi van der Waals, ikatan π , interaksi elektrostatik dan ikatan hidrogen bergantung kepada struktur khusus matriks dan molekul yang terperangkap (Pagliaro 2009)). Permukaan liang matriks silika daripada tetraetil ortosilikat (TEOS) atau tetrametil ortosilikat (TMOS) kebanyakannya terdiri daripada kumpulan OH yang tidak terkondensasi, yang menyebabkan liang tersebut menjadi sangat polar. Kemasukan kumpulan R (pelbagai kumpulan organik seperti kloropropil, fenil, benzil, butil) di dalam struktur menyebabkan penurunan kepolaran kerana kumpulan organik yang besar menghalang kesan lebih kumpulan OH terhadap permukaan liang (Pagliaro 2009). Permukaan silika mempunyai ketumpatan kumpulan silanol yang tinggi dan ia boleh diubah suai dengan kumpulan berfungsi organik bagi membolehkannya berikatan dengan agen sasaran seperti peptida, antibodi atau asid folik (Huang, Young & Townley 2014). Menurut Sun et al. (2015), permukaan luar silika berongga dapat difungsikan dengan 3-aminopropiltriethoksilan bagi pemegungan oligonukleotida bebenang tunggal. Pada pH neutral, kumpulan aminopropil akan bercas dan berinteraksi dengan oligonukleotida bercas negatif dan kehadiran jujukan sasaran akan menyebabkan penghibridan kedua-dua oligonukleotida. Pembentukan struktur berongga amat diminati kerana mempunyai luas permukaan yang besar dan saiz liang yang besar yang mana ia membenarkan kemasukan sebarang agen kimia dan biomolekul bagi tujuan tertentu (Guo et al. 2011).

Penyelidikan ini dijalankan untuk mengkaji bentuk dan saiz zarah silika berongga yang terhasil dengan menggunakan beberapa sulfaktan seperti Tween 20, Triton-X dan CTAB dengan suhu dan masa tindak balas

yang berbeza. Seterusnya, zarah silika yang mempunyai rongga paling besar digunakan sebagai tapak pemegungan DNA dalam aplikasi biosensor DNA.

BAHAN DAN KAEDAH

BAHAN KIMIA

Bahan kimia diperoleh daripada pelbagai syarikat bahan kimia: Tetraetilortosilikat (TEOS) (Fluka), Tween 20 (R&M Chemicals), Triton X-100 (Sigma Aldrich), Heksadesiltrimetilammonium bromida (CTAB) (Sigma Aldrich), natrium florida (NaF) (Merck), (3-aminopropil) trietoksisisilan (APTES) (Sigma Aldrich), etanol (Fluka), ammonia (Fluka), zarah nano emas (Sigma Aldrich), glutaraldehyd (Sigma Aldrich), kalium dihidrogen fosfat (Fluka), dikalium hidrogen fosfat (BDH), monohidrat asid sulfonik-2-antrakuinon (AQMS) (Sigma Aldrich), DNA prob *E. coli* 5'-GGTCCGCTTGCTCTCGC [AmC3] (Sigma Aldrich), DNA *E. coli* sasaran 5'-GCGAGAGCAAGCGGACC (Sigma Aldrich) dan DNA bukan sasaran 5'-CTAGTCGTATAGTAGGC (Sigma Aldrich).

PENGUKURAN FIZIKAL

Mikroskop Elektron Pengimbasan Pelepasan Medan (FESEM), Mikrometrik ASAP 2020, kalorimeter imbasan pembeza (DSC), Penganalisis saiz zarah (Particle Size Analyzer), Pembelauan sinar-X (XRD), relau, pengempar, penggoncang rendaman air, sonikator, potentiostat Autolabs (AUTO-LAB PGSTAT) dengan perisian GPES, elektrod kerja disediakan dengan mengubah suai elektrod karbon skrin bercetak (SPE, Scrint Technology (M) Sdn Bhd), elektrod platinum digunakan sebagai elektrod pembilang dan elektrod rujukan Ag/AgCl digunakan untuk mengukur keupayaan elektrod kerja.

SINTESIS ZARAH SILIKA BERONGGA

Zarah silika berongga disintesis dengan menggunakan beberapa surfaktan, suhu tindak balas dan tempoh masa tindak balas. Secara amnya, larutan pemula silika iaitu

TEOS akan ditambahkan kepada surfaktan tulen dan dikacau selama 30 minit dengan menggunakan pengacau magnetik. Kemudian larutan yang terhasil akan dititiskan secara perlahan-lahan kepada air ternyahion dan disonikasi selama 2 jam. Kemudian, larutan tersebut dimasukkan ke dalam pengacau mengikut tempoh masa tindak balas masing-masing.

PEMILIHAN SURFAKTAN, MASA TINDAK BALAS DAN SUHU TINDAK BALAS

Berdasarkan kajian lalu, surfaktan jenis kationik dan bukan ionik dapat menghasilkan zarah silika berongga. Bagi menghasilkan zarah silika berongga, kajian ini menggunakan surfaktan Tween 20, Triton-X dan CTAB. Surfaktan Tween 20 dan Triton-X mewakili surfaktan jenis bukan ionik manakala surfaktan CTAB mewakili surfaktan jenis kationik. Pemilihan surfaktan ini juga berdasarkan kajian lalu tetapi terdapat sedikit perubahan dalam isi padu bahan. Tetraetil ortosilikat (TEOS) digunakan sebagai bahan pemula bagi penghasilan zarah silika, etanol digunakan sebagai pelarut bagi silika tanpa rongga (kawalan) dan larutan ammonia digunakan sebagai mangkin. Formulasi yang menggunakan surfaktan bukan ionik, penggunaan larutan ammonia digantikan dengan natrium florida (NaF) untuk mempercepatkan kadar tindak balas. TEOS ditambahkan kepada surfaktan tulen dan dikacau selama 10 minit. Larutan yang terhasil dititiskan secara perlahan kepada air ternyahion. Kesemua bahan disonikasi dan kemudian dikocak dengan menggunakan penggoncang rendaman air selama 1 hari pada suhu bilik. Kemudian, diemparkan dengan menggunakan pengempar pada kelajuan 4000 rpm selama 15 minit. Mendakan putih yang terhasil dicuci dengan menggunakan etanol dan air ternyahion sebanyak 3 kali. Mendakan putih itu dipanaskan di dalam relau pada suhu 200 °C selama 4 jam dan kemudian pada suhu 600 °C selama 4 jam juga. Pemanasan dijalankan bagi menyingkirkan surfaktan di samping menyingkirkan wap yang mungkin diserap pada permukaan silika. Jika langkah ini tidak dijalankan, luas permukaan boleh menjadi rendah kerana permukaannya terlindung (Zielinski & Kettle 2013). Gas nitrogen dialirkan ke dalam relau

JADUAL 1. Formulasi bagi penghasilan zarah silika berongga

	TEOS (mL)	etanol (mL)	Air ternyahion (mL)	Ammonia (mL)	Natrium florida (mL)	Tween 20 (mL)	Triton-X (mL)	CTAB (g)
A	2	24	2	5	-	-	-	-
B	45	-	20	-	0.74	20	-	-
C	45	-	-	-	0.74	-	20	-
D	10	-	-	50	-	-	-	0.74

sepanjang pemanasan dijalankan. Jadual 1 menunjukkan formulasi yang digunakan dalam menghasilkan zarah silika berongga. Masa kocakan setiap formulasi diperhatikan pada suhu bilik setiap hari sehingga 8 hari (1, 4, 8 hari). Formulasi yang sama digunakan untuk melihat kesan suhu kocakan semasa tindak balas berlaku (27, 45 dan 60 °C) dan tindak balas dihentikan apabila mendakan putih terbentuk.

ANALISIS DAN PENCIRIAN ZARAH SILIKA BERONGGA

Analisis saiz dan taburan

Pada peringkat awal kajian, Mikroskop Elektron Pengimbasan Pancaran Medan (FESEM) digunakan untuk melihat pembentukan zarah silika berongga yang disintesis. Pelbagai pembesaran dilakukan bagi melihat saiz zarah dan saiz rongga yang terbentuk. Taburan saiz zarah yang terbentuk turut diperhatikan.

Analisis rongga

Mikrometrik ASAP 2020 digunakan dalam menganalisis rongga silika. Kaedah Brunauer-Emmett-Teller(BET)/Barret-Joyner-Halenda(BJH) digunakan bagi menganalisis penyerapan fizikal molekul gas ke atas permukaan pepejal dan digunakan sebagai teknik analisis asas untuk pengukuran kawasan permukaan khusus bahan. Teori BET adalah merujuk kepada penyerapan beberapa lapisan dan biasanya menggunakan gas yang tidak mengkakis seperti nitrogen, argon dan karbon dioksida sebagai terjerap untuk menentukan data kawasan permukaan. Analisis BET dilakukan untuk menganalisis rongga yang terbentuk pada permukaan zarah silika.

Analisis saiz zarah

Analisis saiz zarah merupakan teknik analisis yang mana taburan saiz zarah silika berongga diukur. Penganalisis saiz zarah berjenama Shimadzu model IG 1000 Plus. Julat saiz zarah dapat diperolehi menggunakan instrumen ini. Sebanyak 3 mg zarah silika berongga dilarutkan di dalam etanol sebelum pengukuran dijalankan. Instrumen ini juga dapat menentukan kestabilan penyebaran dengan menggunakan keupayaan zeta. Keupayaan zeta yang besar menunjukkan kestabilan penyebaran yang tinggi. Selain ini, instrumen ini turut memberi maklumat mengenai cas sesuatu bahan.

Analisis suhu peralihan kaca (T_g)

Suhu peralihan kaca (T_g) zarah silika berongga diukur dengan menggunakan instrumen kalorimeter imbasan pembeza (DSC) berjenama Mettler Toledo model DSC 822^e. Sebanyak 3 hingga 3.5 mg zarah silika berongga perlu ditimbang untuk dianalisis dengan instrumen DSC

pada julat suhu 0 °C hingga 450 °C. Kadar pemanasan ialah 10 °C/minit dan pengaliran gas nitrogen 40.0 mL/min. Berdasarkan termogram DSC yang direkodkan, nilai T_g yang dipilih merupakan titik tengah.

Pembelauan sinar-X (XRD)

Pembelauan sinar-X merupakan satu teknik utama bagi penentuan dan pencirian bahan berasaskan corak belauan bahan. Instrumen XRD yang digunakan bagi menganalisis zarah silika berongga ialah Bruker's X-ray Diffraction D8. Instrumen ini dapat menentukan kewujudan rongga pada zarah silika dan sama ada zarah silika bersifat hablur atau amorfus.

FABRIKASI BIOSENSOR DNA BERASASKAN ZARAH SILIKA BERONGGA

Elektrod karbon skrin bercetak (SPE) didepositkan dengan 10 μ L (2.4 mg AuNPs/300 μ L etanol) larutan koloid zarah nano emas (AuNPs) di dalam 30% etanol pada permukaan aktif SPE dan dikeringkan pada suhu bilik (27 °C). Lebih kurang 4 μ L (6 mg zarah silika berongga/500 μ L etanol) ampaian zarah silika berongga beramina (yang difungsikan dengan APTES) (ZSiR) di dalam etanol diendapkan ke atas AuNPs-SPE dan dibiarkan kering pada suhu bilik diikuti dengan perendamannya ke dalam larutan glutaraldehid 8% selama 1 jam dan kemudian direndamkan di dalam 300 μ L larutan DNA prob 1 μ M semalaman. Selepas perendaman selama 1 hari, biosensor DNA tersebut dibilas secara berhati-hati dengan larutan penimbal K-fosfat 0.05 M pH 7 untuk menyingkirkan DNA prob yang tidak terikat pada matriks pemegun iaitu zarah silika berongga beramina (ZSiR). Penghibridan DNA dijalankan dengan merendam biosensor DNA ini ke dalam 300 μ L larutan DNA sasaran selama 1 jam pada suhu 27 °C. Biosensor DNA ini kemudiannya dibilas sekali lagi dengan larutan penimbal K-fosfat 0.05 M pada pH7 untuk menyingkirkan lebih DNA sasaran yang tidak berinteraksi dengan DNA prob. Kemudian, biosensor DNA tersebut direndam di dalam 1 mM larutan redoks garam monohidrat asid sulfonik-2-antrakuinon (AQMS) selama 1 jam lagi sebelum diuji dengan kaedah elektrokimia voltametri denyutan pembezaan (DPV). Kesemua pengukuran elektrokimia DPV dijalankan di dalam 6 mL larutan penimbal K-fosfat berkepekatan 0.05 M pada pH 7.

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

SAIZ DAN TABURAN SAIZ ZARAH SILIKA BERONGGA DAN SAIZ BAGI RONGGA

Proses pembentukan bahan mesoporous dan silika berongga melibatkan 3 tahap: 1) kerjasama pepadanan sendiri

komposit bukan organik/organik, 2) pembentukan fasa kristal yang kaya dengan agregat silika/blok ko-polimer dan 3) pengasingan fasa bagi kristal cecair daripada larutan dan pembentukan pepejal mesostruktur dari kondensasi silika. Morfologi bahan mesoporos dan berongga terbentuk selepas langkah ketiga dan bergantung kepada persaingan antara tenaga bebas mesostruktur (ΔG) dan tenaga bebas permukaan koloid (F). Struktur dan sifat zarah silika berongga seperti saiz zarah, morfologi dan saiz rongga dapat dikawal dengan mengubah beberapa parameter ketika sintesis dijalankan seperti jenis surfaktan, suhu tindak balas dan masa tindak balas (Ballem, Córdoba & Odén 2010; Khodae, Najmoddin & Shahrad 2018; Nguyen et al. 2022). Menurut Nguyen et al. (2022), diameter rongga bergantung kepada saiz templat dan saiz rongga boleh diperolehi dengan mengubah suai diameter templat.

Surfaktan Tween 20, Triton-X dan CTAB digunakan sebagai templat dalam mensintesis zarah silika berongga. Ketiga-tiga surfaktan ini merupakan surfaktan jenis organik lembut. Surfaktan Tween 20 dan Triton-X merupakan surfaktan jenis nonionik manakala surfaktan CTAB merupakan surfaktan kationik. Ketiga-tiga jenis surfaktan ini dipilih kerana ia biasa digunakan dalam mensintesis silika berongga dan silika berporos. Templat surfaktan ionik digunakan sebagai templat kerana kaedah ini lebih meluas digunakan dalam menghasilkan silika berporos dengan luas permukaan yang besar, saiz rongga yang boleh dikawal, keporosan yang tinggi dan morfologi yang optimum. Selain itu, surfaktan ionik seperti CTAB telah digunakan untuk menghalang berlakunya penggumpalan silika (Khoeni et al. 2024). Surfaktan tak ionik pula, mempunyai kelebihan tersendiri dalam menghasilkan silika berongga kerana mempunyai nilai kepekatan kritikal misel yang rendah, oleh itu, membolehkannya menghasilkan misel pada kepekatan yang seratus kali ganda sangat rendah berbanding kepekatan yang diperlukan surfaktan ionik (Maqbool, Chanchal & Srivastava 2018). Bentuk misel yang terhasil daripada surfaktan ini dipengaruhi dengan perubahan suhu (Khoeni et al. 2024; Maqbool, Chanchal & Srivastava 2018).

Suhu yang berbeza akan menghasilkan saiz zarah yang berbeza selepas fasa langkah pemisahan dengan persaingan antara (ΔG) dan F akan menentukan morfologi bahan berongga. Pada suhu yang rendah, kondensasi silika adalah rendah dan menyebabkan fasa kadar pemisahan rendah. Morfologi dikawal oleh kesan tenaga permukaan (F), maka zarah dengan sudut yang rendah akan terbentuk dengan banyak dan luas permukaan menjadi rendah (Ballem, Córdoba & Odén 2010). Pada suhu yang tinggi dan kerana kadar hidrolisis dan kondensasi silika, fasa pemisahan berlaku awal dan (ΔG) mendominasi pembentukan zarah. Zarah yang terbentuk pada suhu tinggi mempunyai permukaan yang tidak licin seperti silika yang terbentuk

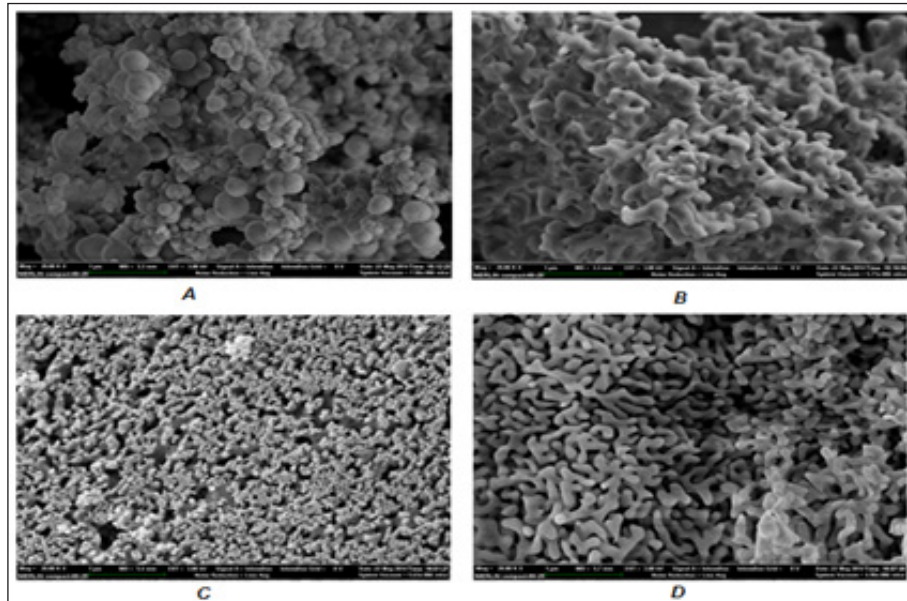
pada suhu rendah. Apabila kadar pempolimeran silika meningkat, kelikatan bertambah dan memperlambatkan pertumbuhan zarah (Ballem, Córdoba & Odén 2010).

Rajah 1 menunjukkan saiz dan morfologi bagi zarah silika berongga yang disintesis pada suhu 27 °C dan masa tindak balas 1 hari. Berdasarkan mikrograf FESEM dalam Rajah 1, zarah silika yang diperolehi tersusun dengan agak rapat dan permukaan zarah silika adalah agak licin. Didapati tiada kewujudan zarah silika berongga dalam setiap mikrograf yang ditunjukkan. Rajah 1(A) menunjukkan zarah silika yang terbentuk adalah zarah silika bersaiz nano dan berbentuk sfera. Rajah 1(B), 1(C) dan 1(D) menunjukkan bahawa zarah silika bersaiz nano yang diperolehi tidak berbentuk sfera tetapi berbentuk batu karang dan ia tidak pernah dilaporkan dalam kajian sebelum ini. Zarah silika berbentuk batu karang ini mempunyai saiz diameter dan kelebaran lebih kurang 90 nm dan 30 nm.

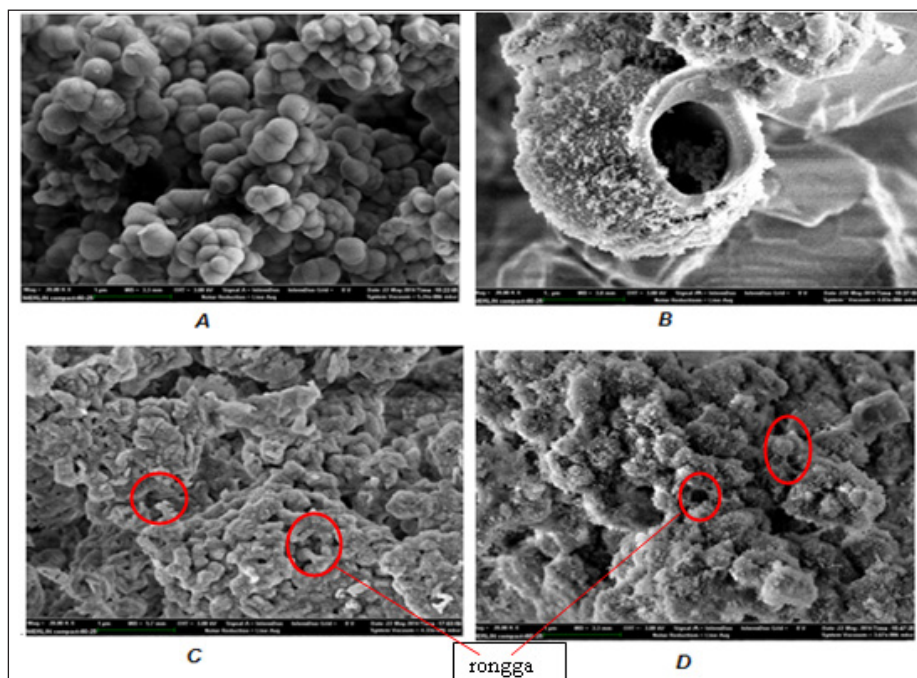
Rajah 2 menunjukkan mikrograf FESEM bagi tindak balas antara TEOS dengan surfaktan selama 8 hari. Berdasarkan mikrograf FESEM, didapati zarah silika yang terbentuk adalah berbentuk sfera disebabkan oleh tindak balas hidrolisis dan kondensasi lengkap telah berlaku. Rajah 2(A) menunjukkan zarah silika yang terbentuk masih kekal berbentuk sfera. Rajah 2(B) menunjukkan tindak balas antara TEOS dan surfaktan Tween 20 menghasilkan zarah silika berongga dengan saiz rongga di bawah 200 nm. Rajah 2(C) dan 2(D) menunjukkan zarah silika yang terbentuk adalah poros tetapi tidak mempunyai rongga yang besar. Sintesis silika pada suhu 27 °C dan masa tindak balas selama 4 hari menunjukkan, tiada perubahan ketara dapat dikenal pasti.

Rajah 3 menunjukkan mikrograf FESEM bagi tindak balas pada suhu 60 °C selama 2 hari. Berdasarkan mikrograf, didapati zarah silika berongga telah terbentuk bagi surfaktan Tween 20. Didapati bagi surfaktan CTAB (Rajah 3(D)), silika berporos telah terbentuk tetapi tidak mempunyai rongga yang besar. Bagi tindak balas pada suhu 0 °C menunjukkan tiada mendakan putih terbentuk manakala larutan menjadi keras serta merta apabila suhu melebihi 70 °C.

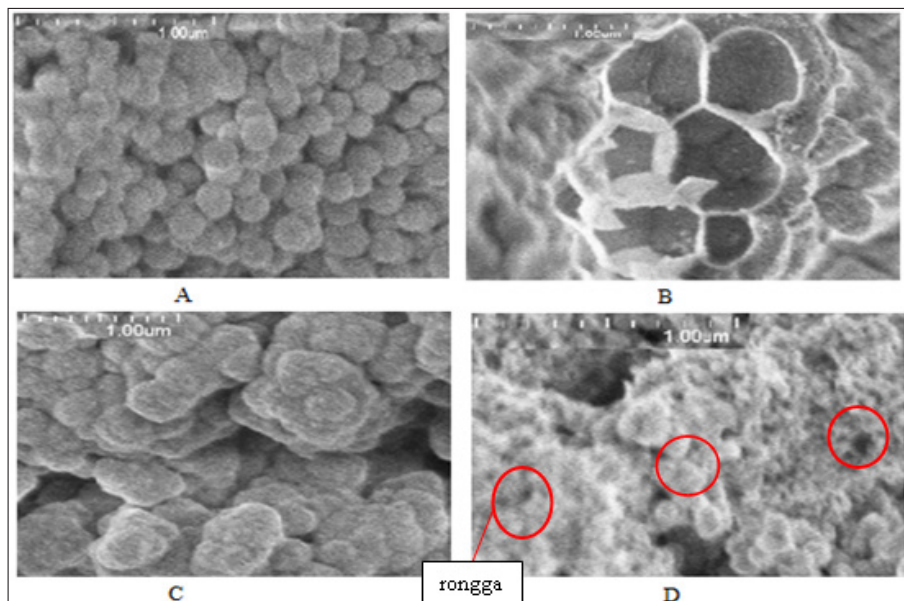
Berdasarkan mikrograf FESEM, didapati tindak balas sesuai dijalankan pada suhu bilik selama 8 hari menggunakan surfaktan Tween 20 bagi membentuk zarah silika berongga (Rajah 4) Analisis seterusnya diteruskan dengan menggunakan formula ini kecuali pada analisis BET-BJH. Formula yang dipilih perlu dibandingkan dengan surfaktan yang lain bagi memastikan pilihan yang dibuat adalah tepat. Surfaktan merupakan bahan berbentuk misel dan surfaktan bertindak sebagai templat organik lembut bagi membentuk zarah silika berongga. Templat boleh didefinisikan sebagai replikasi suatu struktur kepada suatu struktur lain dan biasanya menghasilkan subjek yang mempunyai tiga dimensi. Walau bagaimanapun, perlu



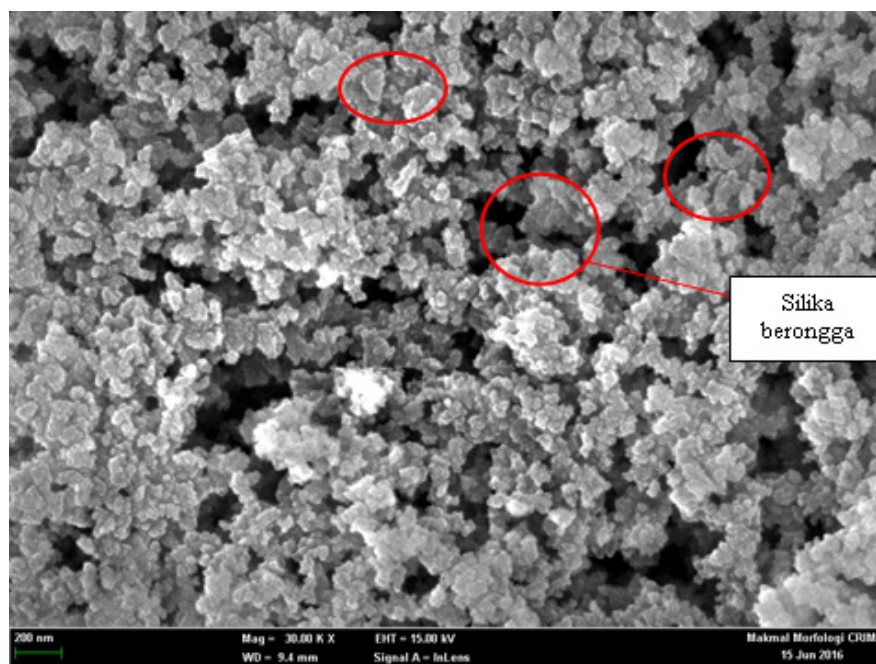
RAJAH 1. Mikrograf FESEM dengan 30000 kali pembesaran bagi setiap formula dan tindak balas dijalan pada suhu 27 °C selama 1 hari. A) tanpa surfaktan, B) surfaktan Tween 20, C) surfaktan Triton-X dan D) surfaktan CTAB



RAJAH 2. Mikrograf FESEM dengan 30000 kali pembesaran bagi tindak balas pada suhu 27 °C selama 8 hari. A) tanpa surfaktan, B) surfaktan Tween 20, C) surfaktan Triton-X dan D) surfaktan CTAB



RAJAH 3. Mikrograf FESEM dengan 30000 kali pembesaran bagi setiap formula dan tindak balas dijalankan pada suhu 60 °C selama 2 hari. A) tanpa surfaktan, B) surfaktan Tween 20, C) surfaktan Triton-X dan D) surfaktan CTAB



RAJAH 4. Mikrograf FESEM bagi taburan silika berongga menggunakan surfaktan Tween 20 pada suhu 27 °C selama 8 hari pada 30000 kali pembesaran

diingatkan bahawa surfaktan tidak bertindak balas di dalam proses hidrolisis dan kondensasi dalam pembentukan silika. Zarah silika berongga ini disintesis dengan menggunakan proses Stöber yang diubah suai dengan penambahan surfaktan dan NaF. NaF bertindak sebagai mangkin bagi mempercepatkan proses pembentukan silika (Grinval, Basset & Lefebvre 2013). Misel bertindak sebagai topeng bagi TEOS untuk membentuk silika. Dalam erti kata lain, silika terbentuk di sekeliling misel. Misel ini dibuang dengan pemanasan pada suhu melebihi 600 °C. Setelah misel dibuang, rongga akan terbentuk bersama zarah silika. Pengawalan kepekatan surfaktan dan TEOS dapat menghasilkan struktur berongga yang sekata.

ANALISIS RONGGA

Pencirian penyerapan menggunakan gas nitrogen merupakan teknik yang sering digunakan bagi mendapatkan sifat tekstur bagi pepejal porous seperti isi padu rongga, luas permukaan khusus dan penyebaran saiz rongga. Pengukuran berdasarkan penyerapan dan penyahserapan nitrogen dilakukan pada suhu 77 K. Penyerapan gas nitrogen merupakan kaedah yang disarankan IUPAC bagi bahan porous dengan luas permukaan khusus, S besar daripada $5 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ (De Lange et al. 2014). Isi padu rongga dan luas permukaan khusus menggunakan kaedah Brunauer–Emmett–Teller (BET) manakala analisis penyebaran saiz rongga dan penyebaran isi padu rongga dikira menggunakan kaedah Barret-Joyner-Halenda (BJH).

Jadual 2 menunjukkan isi padu rongga, luas rongga dan jumlah luas permukaan. Menurut Zielinski dan Kettle (2013), bahan berliang atau permukaan yang tidak licin memberikan luas permukaan BET yang lebih besar berbanding bahan tanpa sebarang liang. Sampel B iaitu menggunakan surfaktan Tween 20 menunjukkan jumlah luas permukaan BET yang paling besar diikuti dengan surfaktan CTAB (sampel D), surfaktan Triton-X (sampel C) dan tanpa surfaktan (sampel A). Analisis BET ini menyokong keputusan yang didapati daripada FESEM. Didapati isi padu rongga dan luas rongga bagi sampel A dan C bernilai negatif. Ini disebabkan oleh sampel tersebut tidak mempunyai rongga dan tidak dapat menyerap gas nitrogen dengan baik. Maka, sampel B iaitu penggunaan surfaktan Tween 20 digunakan dan tindak balas dijalankan pada suhu 27 °C selama 8 hari.

ANALISIS PENCIRIAN ZARAH SILIKA BERONGGA

Berikut merupakan analisis saiz zarah bagi silika berongga yang dipilih. Rajah 5(A) dan 5(B) menunjukkan saiz zarah silika berongga dan cas silika berongga yang dianalisis dengan menggunakan penganalisis saiz zarah dan keupayaan zeta daripada Zetasizer. Didapati kebanyakan zarah silika berongga yang terbentuk mempunyai saiz diameter sekitar 220.2 nm. Maka zarah silika berongga yang

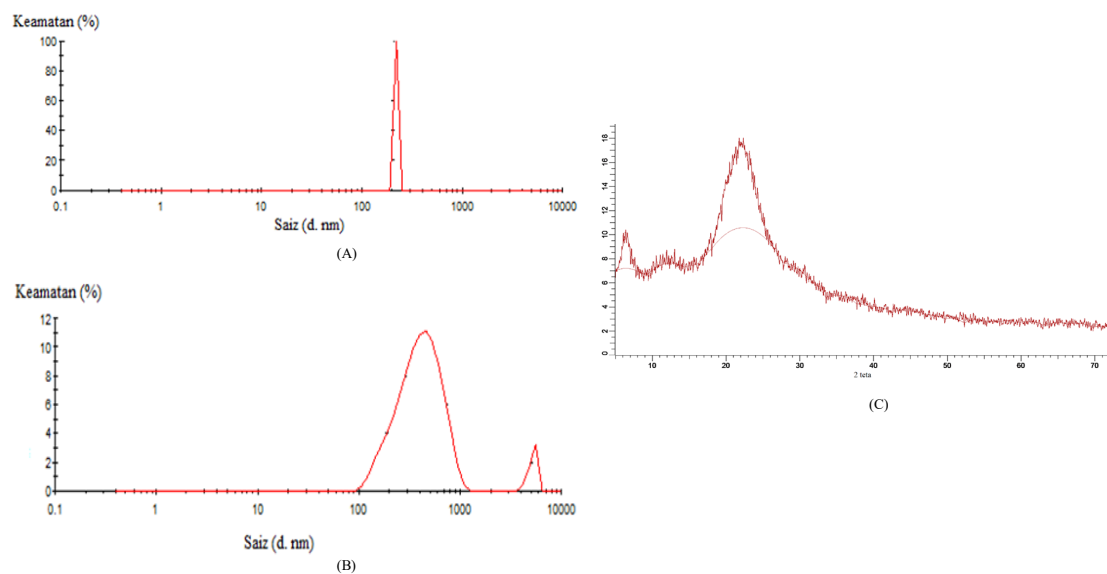
diperoleh ini tergolong dalam kelompok mikrosfera. Zarah silika berongga yang terbentuk juga menunjukkan bacaan -79.9 mV bagi keupayaan zeta. Ini jelas menunjukkan bahawa silika adalah bercas negatif. Apabila silika tersebut difungsikan dengan APTES untuk tujuan berikatan dengan DNA teramina dalam mereka bentuk biosensor DNA, didapati saiz silika yang terbentuk mempunyai purata diameter 430.8 nm dengan keamatan sebanyak 94.7%. Keupayaan zeta pula menunjukkan bacaan sebanyak 9250 mV dan ini menunjukkan bahawa silika bercas positif. Menurut Nakanishi, Tomita dan Kato (2015), silika biasanya bercas negatif disebabkan oleh kumpulan silanol. Apabila APTES ditambahkan, silika menjadi bercas positif kerana terdapatnya kumpulan amino pada rangkaian silika.

Ujian termal dijalankan dengan menggunakan DSC untuk mendapatkan tingkah laku bagi silika berongga yang dihasilkan daripada surfaktan Tween 20. Berdasarkan keputusan yang diperoleh, didapati zarah silika berongga tergolong dalam kelompok amorfus. Sampel separa hablur ini membentuk 'solid glass' ketika penyejukan. Kemudiannya ia akan menghablur pada suhu di atas suhu peralihan kaca (penghabluran sejuk). Suhu peralihan kaca adalah suhu pada saat polimer berubah daripada keadaan padat (kaca) kepada keadaan getah. Analisis ini dijalankan bagi memastikan silika yang terhasil tidak berubah bentuk pada suhu yang tinggi. Nilai T_g yang diperoleh adalah sekitar 273 °C. Peralihan kaca merupakan keputusan bagi interaksi molekul dan dapat mengesan perubahan kecil pada struktur sampel. Suhu peralihan kaca bukanlah takat termodinamik yang tetap. Ia bergantung kepada kadar pemanasan dan penyejukan, sejarah terma dan mekanik dan juga kaedah yang digunakan untuk mengesannya (Mettler Toledo 2000). Suhu sekitar 273 °C menunjukkan penguraian surfaktan dan tenaga termal diperlukan untuk penguraian surfaktan dan disingkirkan daripada sistem (Khoeni et al. 2019). Oleh itu, sekitar suhu 300 °C, surfaktan dapat disingkirkan secara maksimum. Profil rawatan haba perlu dijalankan supaya surfaktan dapat disingkirkan dan kecacatan struktur silika berongga dapat dielakkan.

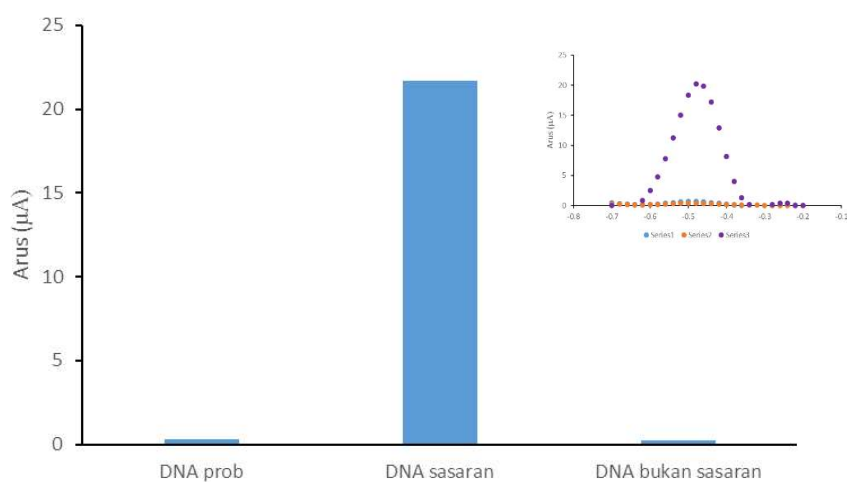
Analisis XRD dijalankan bagi mendapatkan struktur sesuatu bahan. Rajah 5(C) menunjukkan spektrum XRD yang diperoleh bagi zarah silika berongga yang telah dikalsinkan pada suhu 620 °C. Puncak spektrum yang lebar dan jelas pada 2θ antara 15° dan 30° menunjukkan bahawa silika berongga yang terbentuk adalah dalam keadaan amorfus dan tiada struktur hablur terbentuk (Nguyen, Park & Kim 2014). Silika berongga yang diperoleh adalah dalam keadaan amorfus sama seperti silika nano dan silika mesoporos (Alqasaimah et al. 2014; Mourhly et al. 2015). Puncak penyerapan yang rendah pada $2\theta = 2^\circ$ menunjukkan bahawa silika yang dihasilkan mempunyai poros/rongga (Narayanan 2008). Didapati tiada puncak lain yang muncul dan ini membuktikan bahawa sampel yang diperoleh adalah tulen dan tiada fasa yang tidak diinginkan wujud ketika proses dijalankan.

JADUAL 2. Isi padu rongga, luas rongga dan jumlah luas permukaan bagi sampel A, B, C dan D

Sampel	Isi padu rongga (cm ³ /g)	Luas rongga (m ² /g)	Jumlah luas permukaan, S _{BET}
A	-1.045×10 ⁻³	-1.8547	76.7881
B	1.927×10 ⁻³	5.1887	302.6976
C	-7.788×10 ⁻³	-11.2039	89.1938
D	1.6710 ⁻⁴	1.9072	228.1858



RAJAH 5. A) Saiz zarah silika berongga sebelum difungsikan dengan APTES, B) Saiz zarah silika berongga selepas difungsikan dengan APTES dan C) Analisis XRD bagi zarah silika berongga

RAJAH 6. Kebolehpilihan biosensor DNA berasaskan zarah silika berongga (ZSiR) terhadap DNA sasaran *E. coli*

BIOSENSOR DNA BERASASKAN ZARAH SILIKA BERONGGA

Zarah silika berongga yang terhasil ini mempunyai luas permukaan yang lebih besar berbanding silika tanpa rongga. Ini membolehkan lebih banyak biomolekul dipegunkan di atas permukaan silika berongga. Perkara ini penting dalam menghasilkan sebuah biosensor yang lebih selektif dan sensitif. Silika berongga yang terhasil ini digunakan dalam pembinaan biosensor DNA *E. coli* elektrokimia.

Rajah 6 menunjukkan rangsangan DPV bagi elektrod SPE diubah suai dengan AuNP dan ZSiR terhadap penanda oligonukleotida antrakuinon (AQMS) sebagai penanda redoks. Rangsangan arus puncak DPV AQMS yang kuat dan tajam pada -0.5 V menunjukkan bahawa penanda redoks AQMS telah berinterkalasi di dalam DNA ganda dua yang terpegun di atas elektrod ZSiR/AuNPs-SPE selepas proses penghibridan antara DNA prob dengan DNA sasaran. Ini menjelaskan bahawa DNA prob telah dapat dipegunkan dengan baik di atas HSiSs beramina melalui taut silang kovalen dengan glutaraldehid (Ulianas et al. 2012). Didapati tiada rangsangan DPV AQMS pada -0.5 V bagi DNA prob bebenang tunggal dan penghibridan dengan DNA bukan sasaran. Ini disebabkan oleh penolakan elektrostatik antara AQMS dan DNA-ZSiR/AuNPs-SPE yang bercas sama. Elektrod DNA berasaskan substrat hibrid ZSiR/AuNPs menunjukkan 100% rangsangan terhadap jujukan sasaran, yang mana ia menghasilkan biosensor DNA yang sangat selektif terhadap pengesanan DNA sasaran *E. coli*.

KESIMPULAN

Tiga surfaktan berbeza iaitu Triton-X, Tween 20 dan CTAB telah digunakan dalam menghasilkan zarah silika berongga. Zarah silika berongga telah berjaya disintesis dengan menggunakan surfaktan Tween 20 pada suhu 27 °C dan tindak balas dijalankan selama 8 hari. Saiz rongga yang dihasilkan adalah lebih besar berbanding dua surfaktan yang lain. Suhu dan masa tindak balas turut memainkan peranan penting dalam penghasilan zarah silika berongga. DNA prob *E. coli* berjaya dipegunkan pada zarah silika berongga (ZSiR) beramina. Elektrod bercetak skrin (SPE) telah diubah suai dengan zarah nano emas (AuNPs) dan ZSiR. SPE yang terubah suai ini dapat mengesan pengoksidaan dan penurunan penanda penghibridan DNA antrakuinon-2-asid sulfonik monohidrat (AQMS) dengan baik. Kesensitifan biosensor ini disebabkan oleh zarah silika berongga mempunyai luas permukaan yang lebih besar berbanding zarah silika nano dan dapat menyediakan lebih banyak kawasan bagi pemegungan prob DNA dan kadar penghibridan dapat ditingkatkan.

PENGHARGAAN

Penulis ingin mengucapkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Kementerian Pengajian Tinggi, Malaysia kerana telah membantu membiayai penyelidikan ini melalui peruntukan geran *Fundamental Research Grant Scheme* (FRGS) dengan kod geran FRGS/1/2022/ STG04/UKM/02/4) dan Jabatan Sains Kimia, Fakulti Sains dan Teknologi dalam menyediakan instrument penyelidikan.

RUJUKAN

- Alqasaimh, M., Lee, Y.H., Ahmad, M., Raj, A.S.S. & Tan, L.L. 2014. A large response range reflectometric urea biosensor made from silica-gel nanoparticles. *Sensors* 14: 13186-13209.
- Ballem, M.A., Córdoba, J.M. & Odén, M. 2010. Influence of synthesis temperature on morphology of SBA-16 mesoporous materials with a three-dimensional pore system. *Microporous and Mesoporous Materials* 129: 106-111.
- Bueno, V. & Ghoshal, S. 2020. Self-assembled surfactants-templated synthesis of porous hollow silica nanoparticles: Mechanism of formation and feasibility of post-synthesis nanoencapsulation. *Langmuir* 36: 14633-14643.
- Caruso, F., Caruso, R.A. & Mohwald. 1998. Nanoengineering of inorganic and hybrid hollow spheres by colloidal templating. *Science* 282: 1111-1114.
- Carvalho, A.M., Cordeiro, R.A. & Faneca, H. 2020. Silica-based gene delivery systems: From design to therapeutic applications. *Pharmaceutic* 12(7): 649.
- De Lange, M.F., Vlugt, T.J.H., Gascon, J. & Kapteijn, F. 2014. Adsorptive characterization of porous solids: Error analysis guides the way. *Microporous and Mesoporous Materials* 200: 199-215.
- Deng, Y., Lettmann, C. & Maier, W.F. 2001. Leaching of amorphous V- and Ti- containing porous silica catalyst in liquid phase oxidation reactions. *Applied Catalysis A: General* 214(1): 31-46.
- Grinval, E., Basset, J.-M. & Lefebvre, F. 2013. A novel approach to prepare well-defined silica supported polyoxometalate species by reaction with a chlorinated support. *Journal of Inorganic Chemistry* <https://doi.org/10.1155/2013/902192>
- Guo, H., Qian, H., Sun, S., Sun, D., Yin, H., Cai, X., Liu, Z., Wu, J., Jiang, T. & Liu, X. 2011. Hollow mesoporous silica nanoparticles for intracellular delivery of fluorescent dye. *Chemistry Central Journal* 5: 1.
- He, F., Zhuo, R.X., Liu, L.J., Jin, D.B., Feng, J. & Wang, X.L. 2001. Immobilized lipase on porous silica beads: Preparation and application for enzymatic ring-opening polymerization of cyclic phosphate. *Reactive and Functional Polymers* 47(2): 153-158.

- Huang, X., Young, N.P. & Townley, H.E. 2014. Characterization and comparison of mesoporous silica particles for optimized drug delivery. *Nanomaterial Nanotechnology* 4: 1-15.
- Information for users of METTLER TOLEDO thermal analysis systems. 2000. UserCom 1/2000.
- Jain, A., Rogojevic, S., Ponoth, S., Agarwal, N., Matthew, I., Gill, W.N., Persans, P., Tomozawa, M., Plawsky, J.L. & Simonyi, E. 2001. Porous silica materials as low-k dielectrics for electronic and optical interconnects. *Thin Solid Films* 398-399: 513-522.
- Khodae, P., Najmoddin, N. & Shahrad, S. 2018. The effect of ethanol and temperature on the structural properties of mesoporous silica synthesized by sol-gel method. *Journal of Tissues and Materials* 1: 10-17.
- Khoeini, M., Najafi, A., Rastegar, H. & Amani, M. 2019. Improvement of hollow mesoporous silica nanoparticles synthesis by hard-templating method via CTAB surfactant. *Ceramics International* 45: 12700-12707.
- Lee, B., Kim, Y., Lee, H. & Yi, J. 2001. Synthesis of functionalized porous silicas via templating method as heavy metal ion adsorbents: The introduction of surface hydrophilicity onto the surface of adsorbents. *Microporous and Mesoporous Materials* 50: 77-90.
- Maqbool, Q., Chanchal, A. & Srivastava, A. 2018. Tween 20-assisted synthesis of uniform mesoporous silica nanospheres with wormhole porosity for efficient intracellular curcumin delivery. *Chemistry Select* 3: 3324-3329.
- Morey, M.S., O'Brien, S., Schwarz, S. & Stucky, G.D. 2000. Hydrothermal and postsynthesis surface modification of cubic, MCM-48 and ultralarge pore SBA-15 mesoporous silica with titanium. *Chemistry of Materials* 12(4): 898-911.
- Mourhly, A., Khachanil, M., Hamidi, A.E., Kacimi, M., Halim, M. & Arsalane, S. 2015. The synthesis and characterization of low-cost mesoporous silica SiO₂ from local pumice rock. *Nanomaterials and Nanotechnology* 5: 35.
- Nakanishi, K., Tomita, M. & Kato, K. 2015. Synthesis of amino-functionalized mesoporous silica sheets and their application for metal ion capture. *Journal of Asian Ceramic Societies* 3: 70-76.
- Narayanan, V. 2008. Synthesis of mesoporous silica microsphere from dual surfactant. *Materials Research* 11(4): 443-446.
- Nguyen, A.T., Park, C.W. & Kim, S.H. 2014. Synthesis of hollow silica by stober method with double polymers as templates. *Bulletin Korean Chem. Soc.* 35(1): 173-176.
- Nguyen, N.H., Truong-Thi, N.H., Nguyen, D.T.D., Ching, Y.C., Huynh, N.T. & Nguyen, D.H. 2022. Non-ionic surfactants As co-templates to control the mesopore diameter of hollow mesoporous silica nanoparticles for drug delivery applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 655: 130218.
- Okada, K., Shimai, A., Takei, T., Hayashi, S., Yasumori, A. & MacKenzie, K.J.D. 1998. Preparation of microporous silica from metakaolinite by selective leaching method. *Microporous and Mesoporous Materials* 21: 289-296.
- Pagliari, M. 2009. *Functionalized Silicas: The Principles in Silica-Based Materials for Advanced Chemical Applications*. RSC Publishing. hlm. 1-34.
- Sun, R., Wang, W., Wen, Y. & Zhang, X. 2015. Recent advance on mesoporous silica nanoparticles-based controlled release system: Intelligent switches open up new horizon. *Nanomaterials* 5: 2019-2053.
- Ulianas, A., Lee, Y.H., Sharina, A.H. & Tan, L.L. 2012. An electrochemical DNA microbiosensor based on succinimide-modified acrylic microspheres. *Sensor* 12: 5445-5460.
- Xin, C., Wang, X., Liu, L., Yang, J., Wang, S. & Yan, Y. 2020. Rational design of monodispersed mesoporous silica nanoparticles for phytase immobilisation. *ACS Omega* 5: 30237-30242.
- Xuefeng, D., Yu, K., Jiang, Y., Bala, H. & Wang, Z. 2004. A novel approach to the synthesis of hollow silica nanoparticles. *Materials Letters* 58: 3618-3621.
- Yoncheva, K., Popova, M., Szegedi, A., Mihaly, J., Tzankov, B., Lambov, N., Konstantinov, S., Tzankova, V., Pessina, F. & Valoti, M. 2014. Functionalized mesoporous silica nanoparticles for oral delivery of budesonide. *Journal of Solid State Chemistry* 211: 154-161.
- Zhang, Z., Dai, S., Fan, X., Blom, D.A., Pennycook, S.J. & Wei, Y. 2001. Controlled synthesis of CdS nanoparticles inside ordered mesoporous silica using ion-exchange reaction. *The Journal of Physical Chemistry B* 105(29): 6755-6758.
- Zielinski, J.M. & Kettle, L. 2013. *Physical Characterization: Surface Area and Porosity*. Intertek Chemicals and Pharmaceuticals. hlm. 1-6.
- Zoldesi, C.I. & Imhof, A. 2005. Synthesis of monodisperse colloidal spheres, capsules, and microballoons by emulsion templating. *Advanced Materials* 17(7): 924-928.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: aishah80@ukm.edu.my