

Skrining Dan Evaluasi Stabilitas Nanodispersi Turunan Imidazole Sebagai Obat Potensial Anti Kanker

Grasianto^{1*}, Amelia Bahetha¹, Ita Ulfin¹, Harmami¹

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science and Data Analytics, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), Sukolilo, Surabaya, 60111, Indonesia

*grasianto@its.ac.id

Abstract

In this study, nano-drugs derived from imidazole derivatives, which have been proven to exhibit good pharmacological activity for cancer treatment, are evaluated as potential anti-cancer agents. Four imidazole derivatives, namely compounds 2,4,5-Triphenylimidazole (IMD 1), 2-(4-nitrophenyl)-4,5-diphenyl-1H-imidazole (IMD 2), 2-(4-Methoxyphenyl)-4,5 diphenyl-1H-imidazole (IMD 3), and 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)-2-methoxyphenol (IMD 4), were evaluated for their stability as nanodrugs. It revealed that gelatin was the best coating material for stabilizing imidazole-derived nanodrugs. It is found that the IMD 4 nanodrug compound is the most promising nanodrug for use, as it remains within the EPR size range of 203 nm, with an optimal coating concentration of 25 µg/mL. The BCA assay confirmed that the gelatin coating the surface of the IMD 4 nanodrug had a maximum coating capacity of approximately 50 µg/mL, due to depletion of the active site on the surface layer. The pH stability test of the most promising IMD 4 nanodrug still exhibited aggregation, specifically with sizes of 575 nm at pH 5 and 995 nm at pH 7. The final results of FESEM characterization revealed the surface morphology of IMD 4 nanodrugs in the rectangular form with a size within the EPR range..

Keyword: Surface Modification, Nano Drugs, Stability, Imidazole Derivatives, Biopolymers

Abstrak

Penelitian ini menunjukkan nano-obat yang berasal dari turunan imidazol, yang telah terbukti memiliki aktivitas farmakologis yang baik untuk pengobatan kanker, dievaluasi sebagai agen anti-kanker potensial. Empat turunan imidazol, yaitu senyawa 2,4,5-Triphenylimidazole (IMD 1), 2-(4-nitrophenyl)-4,5-diphenyl-1H-imidazole (IMD 2), 2-(4-Methoxyphenyl)-4,5 diphenyl-1H-imidazole (IMD 3), dan 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)-2-methoxyphenol (IMD 4), dievaluasi untuk stabilitasnya sebagai nano-obat. Hasilnya

menunjukkan bahwa gelatin merupakan bahan pelapis terbaik untuk menstabilkan nanodrug yang berasal dari imidazol. Diketahui bahwa senyawa nanodrug IMD 4 merupakan nanodrug yang paling menjanjikan untuk digunakan, karena tetap berada dalam rentang ukuran EPR 203 nm, dengan konsentrasi pelapis optimal 25 µg/mL. Uji BCA mengonfirmasi bahwa lapisan gelatin pada permukaan nanodrug IMD 4 memiliki kapasitas pelapisan maksimum sekitar 50 µg/mL, akibat habisnya situs aktif pada lapisan permukaan. Uji stabilitas pH nanodrug IMD 4 yang paling menjanjikan masih menunjukkan agregasi, khususnya dengan ukuran 575 nm pada pH 5 dan 995 nm pada pH 7. Hasil akhir karakterisasi FESEM menunjukkan morfologi permukaan nanodrug IMD 4 dalam bentuk persegi panjang dengan ukuran dalam rentang EPR.

Kata Kunci: Modifikasi Permukaan, Obat Nano, Stabilitas, Turunan imidazol, Biopolimer

I. PENDAHULUAN

Kemoterapi merupakan pengobatan kanker yang paling umum dilakukan, dengan pemberian obat anti kanker. Namun penggunaan obat anti kanker dalam kemoterapi biasanya menimbulkan efek negatif pada tubuh [1]. Oleh karena itu, perlu dikembangkan obat anti kanker dengan minimal efek samping bagi tubuh, salah satunya adalah dengan mendesain obat anti kanker dalam skala nano. Obat nano adalah obat dengan ukuran 10 – 200 nm. Dengan ukuran tersebut, obat nano memiliki selektif dan efektivitas yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan obat dengan ukuran kurang dari 10 akan diekresikan oleh ginjal, sedangkan obat dengan ukuran lebih dari 200 nm akan dikenali sebagai makrofag [2,3]. Untuk itu, perlu mendesain obat dalam skala nano dengan ukuran yang sesuai yakni 10-200 nm.

Selain itu, sel kanker biasanya memiliki kebocoran pada pembuluh darah dimana ukuran kebocorannya berkisar pada 10 – 200 nm, sehingga dengan mendesain obat pada skala nano 10 – 200 nm, memungkinkan untuk masuk dan menembus kebocoran pembuluh darah dan mempunyai efek enhanced permeability retention (EPR) yang baik untuk sel kanker, sehingga obat nano lebih spesifik menyerang sel kanker tanpa mempengaruhi sel – sel sehat yang lainnya [4].

Pengembangan obat nano, umumnya dapat menggunakan senyawa organik maupun anorganik. Beberapa senyawa organik maupun senyawa anorganik telah digunakan sebagai prekursor untuk membentuk obat nano, seperti contohnya obat nano yang terlapisi nanopartikel emas dan nanopartikel perak, namun baik nanopartikel emas maupun nanopartikel perak memiliki imunotoksitas

yang tinggi [5]. Sehingga senyawa organik lebih memiliki unggul jika digunakan sebagai aplikasi medis, karena senyawa organik memiliki banyak aktivitas biologis dan dapat terdegradasi alami dalam tubuh. Dalam penelitian ini, turunan imidazole digunakan sebagai bahan utama untuk pembuatan obat nano. Turunan imidazole telah terbukti memiliki berbagai aktivitas biologis seperti aktivitas antibakteri, anti kanker, anti tuberkulosis, anti jamur, analgesik, dan anti-HIV [6]. Pembuatan senyawa turunan imidazole dalam ukuran nano dipercaya akan meningkatkan efektivitas nya terhadap sel kanker. Dalam penelitian ini digunakan berbagai senyawa turunan imidazole yakni 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)-2-methoxyphenol (IMD 1), 2-(4-Methoxyphenyl)-4,5-diphenyl-1H-imidazole (IMD 2), 2,4,5-Triphenylimidazole (IMD 3), dan 2-(4-nitrophenyl)-4,5-diphenyl-1H-imidazole (IMD 4) untuk dilakukan skrining potensinya sebagai obat nano dan dievaluasi stabilitasnya dalam kondisi biologis.

Obat nano dapat di sintesis melalui metode repesipitasi, metode ini merupakan metode yang umum digunakan. Metode ini dipilih karena kemudahan operasionalnya, biaya yang murah, ramah lingkungan dan kontrol ukuran partikel yang terkendali [7]. Obat nano yang di sintesis melalui metode repesipitasi umumnya stabil, namun dalam

beberapa kasus terjadi agregasi partikel, yakni perbesaran ukuran menjadi skala mikro. Maka dari itu untuk mencegah adanya agregasi, dapat dilakukan pelapisan. Pelapisan yang umum digunakan ialah melapisi obat nano dengan polimer. Pelapisan dengan polimer membantu menstabilkan nano obat, mencegahnya menggumpal atau mengendap dalam larutan. Stabilisasi ini sangat penting untuk menjaga ketersediaan hayati obat, terutama untuk obat hidrofobik yang cenderung menggumpal [8]. Biopolimer memainkan peran penting sebagai material pelapis dibandingkan polimer pada umumnya. Biopolimer memiliki karakteristik yang cocok untuk diaplikasikan sebagai material pembawa obat, seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan sumber daya terbarukan yang melimpah sebagai bahan utama untuk sintesis biopolimer tersebut [9]. Sehingga pada penelitian ini akan dilakukan skrining material pelapis yang cocok untuk melapisi permukaan obat, diantaranya adalah gelatin, alginat, pektin dan kitosan.

II. METODOLOGI

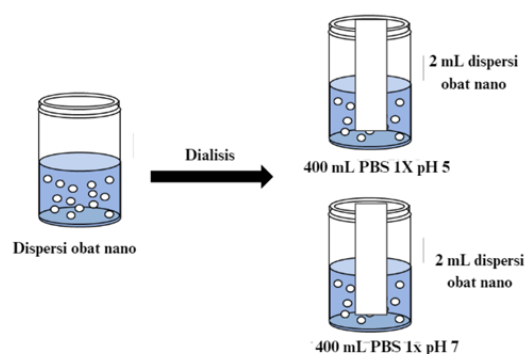
2.1. Preparasi Dispersi Obat Nano Senyawa Turunan Imidazol

10 mM senyawa turunan imidazol 4-(4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)-2-metoksifenol, 2-(4-metoksifenol)-4,5-difenil-1H-imidazol, 2,4,5-trifenylimidazol, 2-(4-

nitrofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol dilarutkan ke dalam 300 uL pelarut THF. Kemudian sebanyak 100uL diinjeksikan ke dalam 10 mL material pelapis seperti gelatin, alginat, pektin dan kitosan dengan konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian 1 mL dispersi dispersi obat nano dimasukkan ke dalam botol sampel, ditambahkan sebanyak 1mL PBS 10X dan 8 mL aquades, variasi ini dilakukan untuk setiap dispersi dengan konsentrasi akhir gelatin 25 $\mu\text{g/mL}$. Ukuran variasi obat masing – masing dikarakterisasi menggunakan *Particle Size Analyzer*.

2.2. Uji Stabilitas pH

Tahapan ini dilakukan dengan menyiapkan dispersi obat nano turunan imidazol yang terlapisi material terpilih, sebanyak 2mL dispersi obat nano dimasukkan ke dalam kantong dialisis. Kemudian kantong tersebut didialisis selama 4 jam di dalam 400mL larutan PBS pH 5 dan pH 7 selama 4 jam. Setelah itu dilakukan karakterisasi kembali menggunakan *Particle Size Analyzer* untuk mengetahui kestabilan obat nano. Skema uji stabilitas terhadap pH dilakukan dengan metode dialisis seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Ilustrasi uji stabilitas terhadap pH.

2.3. *Bicinchoninic Acid (BCA) Assay*

Pembuatan *BCA assay* dimulai dengan menyiapkan larutan standar untuk pembuatan kurva standar dengan menyiapkan larutan gelatin 2000 $\mu\text{g/mL}$ (dalam PBS) disiapkan terlebih dahulu sebagai larutan stok gelatin. Kurva kalibrasi standar gelatin dibuat dengan pengenceran larutan stok gelatin menjadi konsentrasi 50, 100, 250, 500, 700 dan 1000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian disiapkan menyiapkan *BCA assay*, yakni dicampurkan reagen A dengan reagen B dengan perbandingan 50 : 1 lalu pada masing – masing botol sampel dimasukkan 2mL campuran reagen tersebut, kemudian dibuat dispersi obat nano yang terpilih dengan material pelapis yang terpilih pada konsentrasi 50, 100, 250, 500, 700 dan 1000 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian dispersi didiamkan selama 6 jam agar stabil lalu disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang dihasilkan diambil

sebanyak 100 uL dan diteteskan ke dalam botol sampel yang berisi 2 mL reagen BCA assay. Sampel kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam *waterbath* pada suhu 37°C. Kemudian setelah proses inkubasi sampel diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mencari absorbansi pada panjang gelombang 562 nm.

2.4. Karakterisasi Obat Nano Turunan Imidazol

Obat nano turunan imidazol yang paling potensial mendekati ukuran EPR, akan dikarakterisasi menggunakan FESEM (Hitachi high – tech 8400) untuk mengetahui bentuk partikel dan morfologi permukaan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Skrining Material untuk Modifikasi Permukaan Senyawa Obat Nano Turunan Imidazole

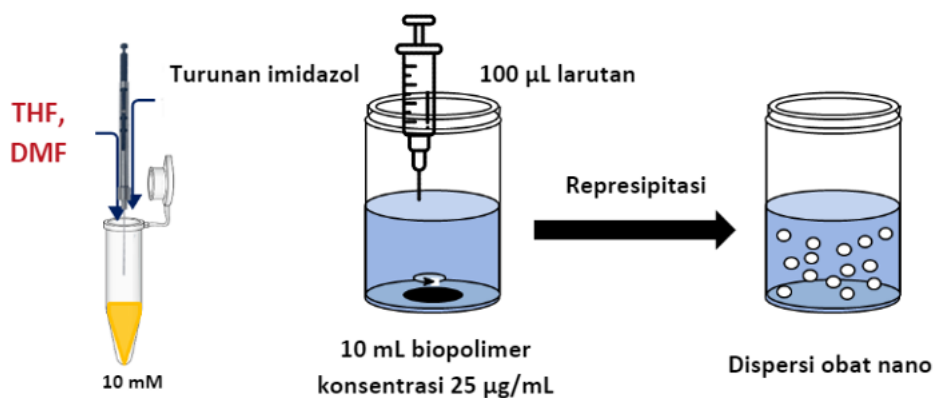
Pada penelitian sebelumnya [10] ditemukan hasil terbaik pelarut yang cocok untuk masing – masing senyawa turunan imidazole. Namun, obat nano yang terbentuk melalui proses repesipitasi menunjukkan adanya agregrasi hampir pada seluruh senyawa ditandai dengan adanya partikel – partikel putih koloid yang melayang - layang. Agregrasi yang tidak terkontrol ini perlu dicegah salah satu nya dengan modifikasi permukaan. Modifikasi permukaan khususnya

menggunakan polimer dapat mencegah terjadinya agregrasi dengan memberikan interaksi hidrofobik dan hidrofilik. Selain itu, polimer polimer juga mampu mencegah agregrasi dengan memberikan ikatan yang lebih kuat melalui terbentuknya ikatan elektrostatik [11]. Pada tahap ini biopolimer berupa gelatin, alginat, pektin dan kitosan digunakan untuk modifikasi permukaan obat nano. Biopolimer ini merupakan biopolimer yang aman digunakan untuk obat nano dan sudah umum digunakan untuk aplikasi di bidang farmasi [12-14]. Dalam penelitian ini, digunakan biopolimer tersebut untuk melapisi obat nano menggunakan metode repesipitasi seperti terlihat pada Gambar 2.

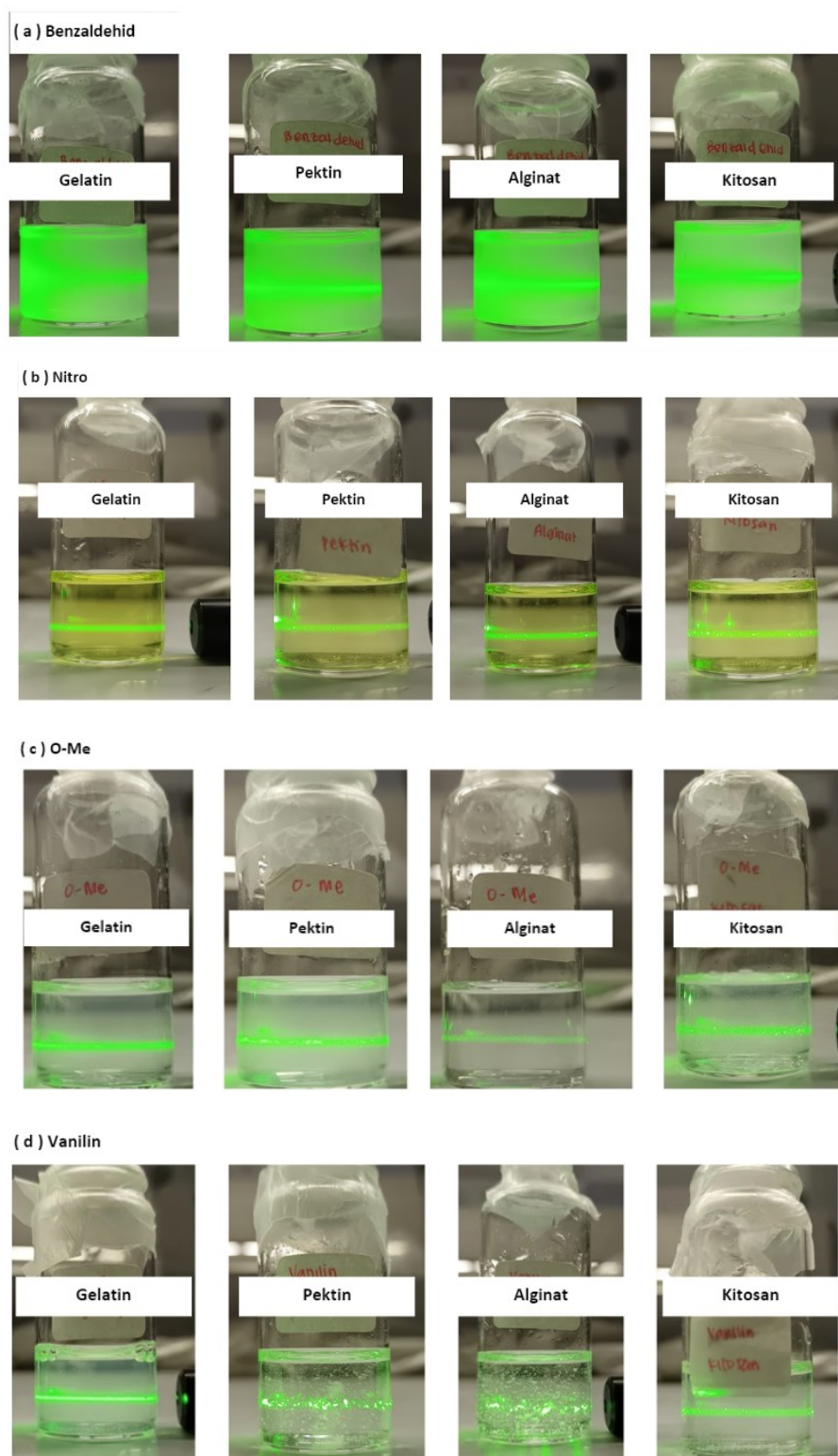
Hasil pembuatan dispersi obat nano turunan imidazole ditunjukkan pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3 (a) menunjukkan hasil dari dispersi obat nano untuk benzaldehid. Pada dispersi turunan benzaldehid tidak teramati dengan jelas untuk partikel – partikel dalam dispersi. Dari keempat biopolimer, yang paling baik adalah gelatin, karena pada dispersi ini tidak muncul serbuk – serbuk kecil berwarna putih yang mengindikasikan agregrasi nano obat. Gambar 3 (b) dan 3 (c) untuk dispersi obat nano nitro dan dispersi obat nano o-me terlapisi pektin, alginat, dan kitosan terlihat adanya serbuk – serbuk kecil berwarna putih yang bergerak bebas yang diidentifikasi sebagai agregrat, namun hal ini

tidak teramati pada dispersi obat nano nitro dan dispersi obat nano o – me terlapisi gelatin. Pada Gambar 3 (d) dispersi obat nano vanilin terlapisi gelatin merupakan satu – satunya dispersi yang memunculkan *straightline* lurus sempurna dan tidak memunculkan koloid berwarna putih seperti pada dispersi obat nano vanilin terlapisi pektin, alginat dan kitosan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada semua senyawa turunan imidazol baik benzaldehid, o-me, nitro dan vanilin, gelatin merupakan material pelapis yang paling bagus untuk modifikasi permukaan. Gelatin merupakan molekul pembawa gugus karboksil dan amino dan juga membawa muatan positif yang dapat berikatan secara

elektrostatik dengan gugus – gugus fenil, metoksi dan hidroksi yang bermuatan negatif pada turunan imidazole, hal tersebut dikonfirmasi pula dari penelitian sebelumnya bahwa gelatin dapat memungkinkan pengikatan yang efektif dengan molekul bermuatan negatif untuk membentuk polielektrolit yang kuat [15]. Pembentukan polielektrolit yang mungkin antara gelatin dengan turunan imidazol tersebut dapat meningkatkan stabilitas kompleks yang terbentuk antara gelatin dan turunan imidazol, sehingga ikatan yang terbentuk semakin kuat dan tidak mudah lepas untuk berikatan dengan molekul lain yang menyebabkan agregasi.



Gambar 2. Skema preparasi obat nano terlapisi biopolimer gelatin, alginat, pektin, dan kitosan (konsentrasi biopolimer = 25 µg/mL).



Gambar 3. Foto dispersi obat nano turunan imidazol terlapisi biopolimer gelatin (a) benzaldehid (b) nitro (c) o-me (d) vanilin setelah 24 jam

3.2. Skrining Stabilitas Senyawa Obat Nano Turunan Imidazole

Pada tahapan screening material pelapis, ditemukan bahwa gelatin adalah material terbaik untuk modifikasi permukaan nano obat senyawa turunan imidazole. Tahapan selanjutnya adalah skrining stabilitas obat nano dalam lingkungan biologis, dimana kondisi pH, ion dan osmolalitas sama dengan kondisi tubuh manusia. Skema modifikasi permukaan obat nano menggunakan gelatin dapat dilakukan dengan pelapisan secara langsung menggunakan gelatin seperti terlihat pada Gambar 4. Dalam tahap ini, dispersi senyawa turunan imidazole diinjeksikan secara langsung ke larutan gelatin. Sebanyak 100 μ L senyawa turunan imidazol 10 mM diinjeksikan ke dalam 10 mL gelatin konsentrasi 25 μ g/mL. Setelah itu, diambil 1 mL dispersi obat nano, dan ditambahkan dengan 1 mL *Phospate Buffer Saline* (PBS) 10x dan 9 mL air secara berturut turut. PBS merupakan larutan yang umum digunakan untuk pengujian biologis karena mengandung mengandung garam NaCl, KCl, KH_2PO_4 , dan Na_2HPO_4 , yang mana larutan tersebut merupakan larutan garam berbasis air yang isotonik, yang berarti memiliki konsentrasi ion dan osmolalitas yang sama dengan tubuh manusia [16]. Hasil disperse obat nano dalam PBS dapat diamati pada Gambar 5.

Pada Gambar 5 dapat diamati bahwa hampir seluruh dispersi obat nano turunan imidazol tidak mengalami agregrasi, ditandai dengan tidak adanya gumpalan partikel berwarna putih yang melayang – layang dan *straightline* yang dihasilkan cukup terlihat. Hal ini mengonfirmasi bahwa dispersi obat nano stabil secara fisik, karena tidak mengalami agregrasi. Namun meskipun dispersi obat nano yang dihasilkan stabil secara fisik, masih perlu dikonfirmasi lagi untuk ukuran obat nano yang dihasilkan, sebab untuk pengaplikasian pada sel kanker, diperlukan ukuran obat nano pada kisaran 10 – 200 nm. Maka selanjutnya akan dilakukan analisis menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran obat nano yang dihasilkan. Distribusi ukuran partikel senyawa turunan imidazole di tunjukan pada Gambar 6 dan ukuran rata-rata tiap dispersi nano obat senyawa turunan imidazole tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis ukuran dispersi obat nano turunan imidazol

Senyawa	Ukuran (nm)
Benzaldehid	876
Nitro	309
O-Me	5242
Vanilin	203

Pada Gambar 5 dapat diamati bahwa hampir seluruh dispersi obat nano turunan imidazol tidak mengalami agregasi, ditandai dengan tidak adanya gumpalan partikel berwarna putih yang melayang – layang dan *straightline* yang dihasilkan cukup terlihat. Hal ini mengonfirmasi bahwa dispersi obat nano stabil secara fisik, karena tidak mengalami agregasi. Namun meskipun dispersi obat nano yang dihasilkan stabil secara fisik, masih perlu dikonfirmasi lagi untuk ukuran obat nano yang dihasilkan, sebab untuk pengaplikasian pada sel kanker, diperlukan ukuran obat nano pada kisaran 10 – 200 nm.

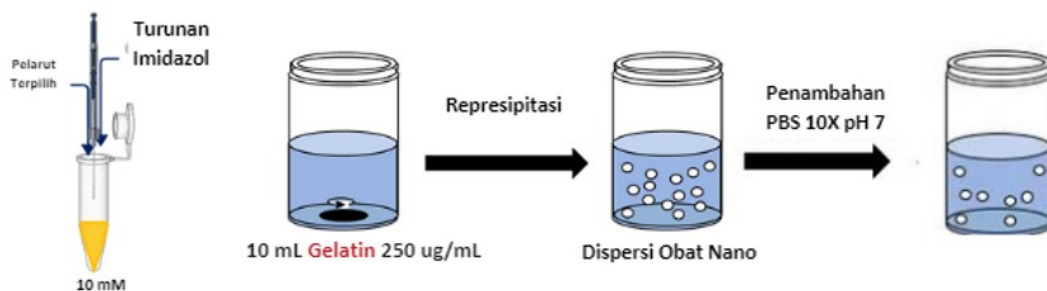
Analisis menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran obat nano yang dihasilkan. Distribusi ukuran partikel senyawa turunan imidazole di tunjukan pada Gambar 6 dan ukuran rata-rata tiap dispersi nano obat senyawa turunan imidazole tersebut disajikan pada Tabel 1.

Untuk mengetahui berapa konsentrasi gelatin yang efektif dalam melapisi obat nano IMD 4, konsentrasi gelatin yang lebih rendah dan lebih tinggi dari 25 µg/mL dievaluasi. Hasil nya dapat dilihat pada Tabel 2.

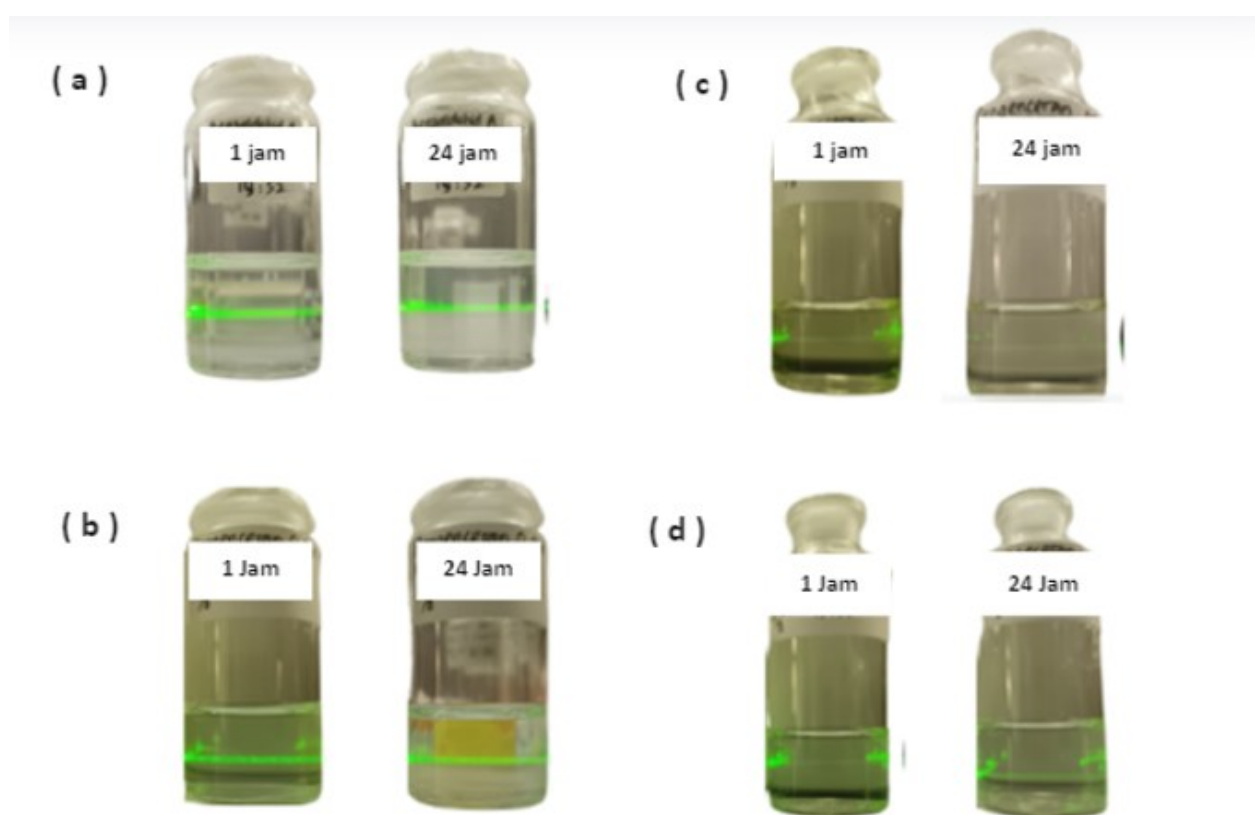
Tabel 2. Pengaruh konsentrasi gelatin terhadap obat nano IMD 4.

Konsentrasi gelatin (µg/mL)	Pengaruh terhadap obat nano IMD 4
5	Mengalami agregasi
15	Mengalami agregasi
25	Ukuran 203 nm
250	Ukuran 180 nm

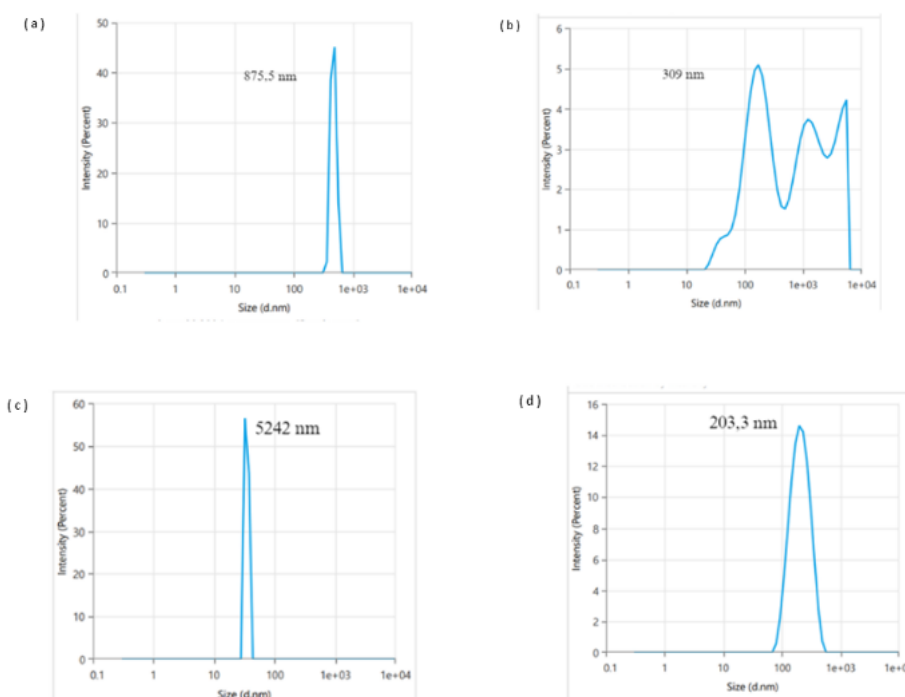
Berdasarkan hasil Tabel 2 , ketika obat nano IMD 4 dilapisi oleh konsentrasi gelatin yang lebih rendah dari 25 µg/mL mengalami agregasi menghasilkan ukuran yang lebih besar, sedangkan ketika obat nano IMD 4 dilapisi oleh gelatin dengan konsentrasi yang lebih tinggi dari 25 µg/mL didapatkan ukuran obat yang hampir sama dengan ukuran pada konsentrasi 25 µg/mL yakni pada ukuran 180 nm. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi gelatin yang optimal untuk melapisi obat nano IMD 4 adalah 25 µg/mL, karena dengan jumlah gelatin yang relatif kecil, sudah mampu memberikan efek penstabilan terhadap obat nano IMD 4.



Gambar 4. Skema preparasi obat nano terlapisi gelatin dalam kondisi biologis.



Gambar 5. Foto dispersi obat nano turunan imidazol dalam lingkungan biologis setelah 24 jam (a) Benzaldehid, (b) Nitro, (c) O-Me, (d) Vanilin.

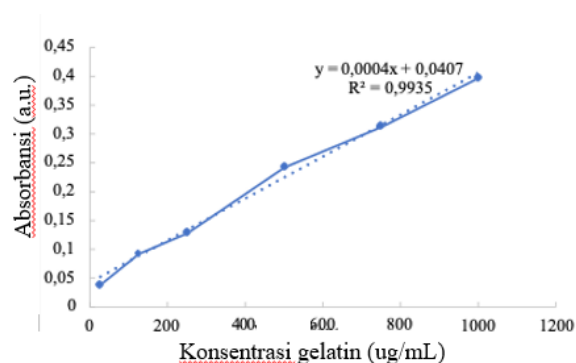


Gambar 6. Distribusi ukuran dispersi obat nano turunan imidazol dalam lingkungan biologis (a) Benzaldehid, (b) Nitro, (c) O-Me, (d) Vanilin.

3.3. Hasil BCA Assays Senyawa Terpilih Obat Nano Turunan Imidazol

BCA assays merupakan metode untuk menguji dan mengkuantifikasi protein dalam suatu larutan didasarkan pada jumlah protein yang tidak terlarut. Uji ini melibatkan protein pengikat pewarna, sebagai aturan, asam bichoninat (BCA) [17]. Prinsip yang digunakan pada uji BCA assays adalah dengan didasarkan pada pembentukan kompleks protn dalam kondisi basa yang diikuti dengan reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{1+} sehingga terjadi perubahan warna menjadi ungu [18]. Pada pengujian BCA assays untuk mengetahui

konsentrasi gelatin yang melapisi gelatin, mula – mula dibuat kurva standar dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 7.

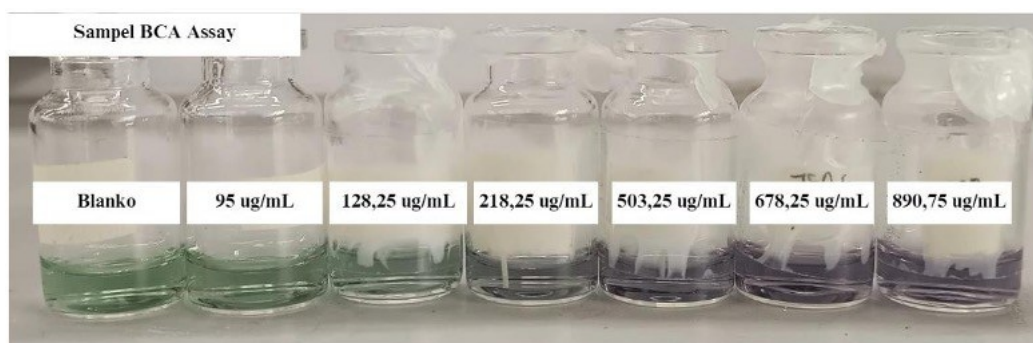


Gambar 7. Kurva standar BCA assay.

Setelah itu, dilanjutkan mengukur jumlah gelatin yang menempel pada obat

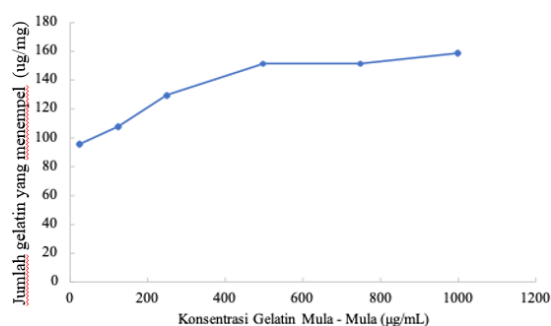
nano. Gelatin yang terukur merupakan gelatin bebas yang tidak terikat pada dispersi obat nano IMD 4 yang kemudian bereaksi dengan reagen BCA menghasilkan kompleks protein

yang berwarna ungu yang dapat diamati pada Gambar 8.



Gambar 8. Foto BCA Assay dispersi obat nano IMD 4.

Berdasarkan Gambar 8 dapat diamati bahwa terjadi perubahan warna akhir sampel obat nano IMD 4 yang semula bening berubah menjadi warna ungu. Intensitas perubahan warna yang terjadi berhubungan dengan konsentrasi gelatin bebas yang terukur pada sampel. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak gelatin bebas yang bereaksi dengan reagen BCA membentuk kompleks protein sehingga warna ungu yang dihasilkan semakin pekat [19, 20].



Gambar 9. Kurva gelatin yang melapisi obat nano IMD 4.

Kemudian sampel obat nano IMD 4 yang telah direaksikan dengan reagen BCA akan diukur pada absorbansi 562 nm. Jumlah gelatin yang menempel pada obat dengan variasi gelatin yang di tambahkan ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 9. Berdasarkan data yang disediakan pada Tabel 3 dan Gambar 9, bahwa gelatin yang melapisi obat nano IMD 4 semakin besar. Semakin banyak gelatin yang menempel pada obat, namun konsentrasi gelatin yang melapisi obat nano IMD 4 stabil. Data tersebut tidak mengalami kenaikan pada pelapisan 503,25 $\mu\text{g/mL}$ dan pada pelapisan 678,25 $\mu\text{g/mL}$. Kenaikan kembali terjadi pada pelapisan 897,75 $\mu\text{g/mL}$ namun tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa obat nano IMD 4 memiliki kapasitas maksimum pelapisan pada rata-rata berkisar 50 $\mu\text{g/mL}$.

Kapasitas maksimum tersebut disebabkan oleh jumlah awal situs aktif pada permukaan obat menentukan berapa banyak gelatin yang dapat mengikat secara efektif. Ketika situs-

situs ini ditempati, kapasitas yang tersisa untuk gelatin tambahan seiring naiknya konsentrasi pelapisan berkurang, sehingga terjadi kapasitas maksimum pelapisan [21].

Tabel 3. Konsentrasi gelatin yang melapisi permukaan obat nano IMD 4

Konsentrasi gelatin mula – mula ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi gelatin bebas ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi gelatin menempel ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi gelatin menempel ($\mu\text{g/mg}$)
95,00	62,50	32,50	94,75
128,25	91,50	36,75	107,14
218,25	174,00	44,25	129,00
503,25	451,50	51,75	150,87
678,25	626,50	51,65	150,87
890,75	836,50	54,25	158,16

3.5 Hasil Uji pH Senyawa Terpilih Obat Nano Turunan Imidazole

Uji pH dispersi obat nano dalam PBS akan dilakukan pada pH 5 dan PBS pH 7. Hal ini bertujuan untuk mengetahui performa obat nano IMD 4 dalam kondisi pH yang berbeda. Obat nano IMD4 perlu dievaluasi performanya dalam pH yang rendah pada kisaran pH 5 sebab pada umumnya tumor biasanya menunjukkan lingkungan mikro yang sedikit asam karena proses metabolisme seperti glikolisis, yang menyebabkan akumulasi metabolit asam [22]. Maka dari itu

untuk pengobatan kanker yang ada pada sel tumor, perlu diketahui bagaimana performa obat nano IMD 4 tersebut pada pH 5, sedangkan pada pH 7 ialah pH pada aliran darah manusia sebelum sampai ke sel target. Hasil pengujian obat nano pada pH 5 dan pada pH 7 menggunakan medium PBS, hasil dapat dilihat pada Tabel 4

Tabel 4 menunjukkan terjadi perbesaran ukuran atau terjadi agregasi ketika obat nano disimulasikan dalam pH yang berbeda. Hal ini dapat dimungkinkan karena gelatin mengalami desorpsi selama proses dialisis

sehingga jumlah gelatin yang menempel pada obat nano berkurang dan menyebabkan efek penstabilan sterik oleh gelatin berkurang. Untuk mengatasi hal ini, perlu penelitian lebih lanjut dengan menambahkan

agen pentaut silang seperti glutaraldehida sehingga menghasilkan struktur yang lebih kaku pada permukaan nano obat, akibatnya gelatin akan tertahan dan tidak mengalami desorpsi selama proses dialisis.

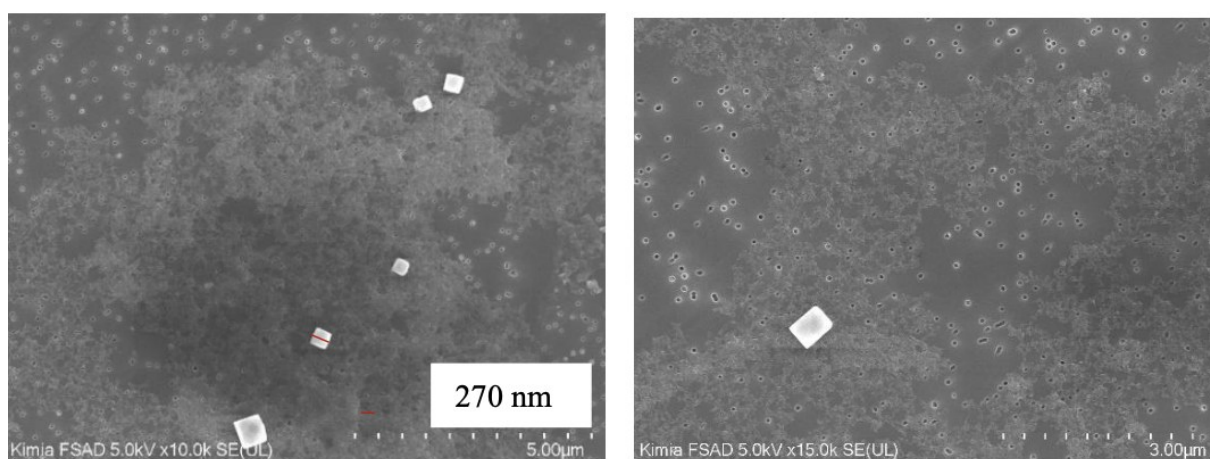
Tabel 4. Hasil uji dialisis obat nano vanilin pelapisan 25 $\mu\text{g/mL}$

Senyawa	pH	Ukuran Awal	Ukuran Akhir
Pelapisan 25 $\mu\text{g/mL}$	5	203 nm	575 nm
	7	203 nm	995 nm

3.6 Karakterisasi Senyawa Terpilih Obat Nano Turunan Imidazol

Obat nano IMD 4 yang terlapis gelatin dengan konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$ merupakan senyawa paling potensial, selanjutnya setelah dilakukan BCA Assay dan uji pH untuk

mengevaluasi stabilitas obat nano, maka tahap akhir obat nano akan dikarakterisasi menggunakan *Field Emission Scanning Microscopy* (FESEM), hasil tersebut dapat diamati pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil FESEM obat nano IMD 4 terlapis gelatin 25 $\mu\text{g/mL}$ pada perbesaran 5 μm dan 3 μm .

Hasil karakterisasi FESEM menunjukkan bahwa morfologi permukaan obat nano merupakan serabut halus dengan partikel yang

berbentuk kotak, dengan ukuran rata-rata sebesar 272 nm. Hasil FESEM menunjukkan hasil yang lebih besar disebabkan oleh proses

pengeringan saat preparasi sampel. Pengeringan yang tidak merata atau terlalu cepat dapat menyebabkan aglomerasi atau pembentukan partikel yang lebih besar. Pada FESEM dapat dikonfirmasi bahwa partikel – partikel obat nano IMD 4 seragam berbentuk kotak namun memiliki distribusi ukuran pada rata-rata 272 nm yang masih memenuhi kisaran EPR sekitar 100 – 200 nm.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa material pelapis yang cocok untuk obat nano turunan imidazol ialah gelatin karena tidak didapati agregasi pada penggunaan material pelapis tersebut. IMD 4 memiliki stabilitas paling baik pada lingkungan biologis dimana nya masih dalam kisaran EPR yakni 203 nm. Konsentrasi optimal gelatin yang melapisi obat nano IMD 4 adalah 25 µg/mL. Hasil BCA Assay didapatkan bahwa gelatin yang melapisi permukaan obat nano IMD 4 memiliki kapasitas maksimum pelapisan pada kisaran 50 µg/mL disebabkan oleh habisnya situs aktif pada lapisan permukaan obat nano IMD 4. Uji stabilitas pH obat nano IMD 4 yang paling potensial masih mengalami agregasi yakni dengan ukuran 575 nm pada pH 5 dan dengan ukuran 995 nm pada pH 7 sehingga perlu penelitian lebih lanjut. Hasil akhir karakterisasi FESEM menunjukkan

morfologi permukaan obat nano IMD 4 berbentuk kotak dengan ukuran yang masih memenuhi pada kisaran EPR.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Para penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Institut Teknologi Sepuluh Nopember atas dukungan dana penelitian melalui Skema Pendanaan Penelitian Keilmuan No 1635/PKS/ITS/2024.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Altun, İ., & Sonkaya, A. 2018. *The Most Common Side Effects Experienced by Patients Were Receiving First Cycle of Chemotherapy*. 47(8), 1218–1219.
- [2] Nirmala, M. J., Kizhuveetil, U., Johnson, A., Balaji, G., Nagarajan, R., & Muthuvijayan, V. 2023. Cancer nanomedicine: a review of nanotherapeutics and challenges ahead. *RSC Advances*, 13(13), 8606–8629. <https://doi.org/10.1039/d2ra07863e>
- [3] Gessner, I. 2021. Optimizing nanoparticle design and surface modification toward clinical translation. *MRS Bulletin*, 46(7), 643–649. <https://doi.org/10.1557/s43577-021-00132-1>
- [4] Nakamura, Y., Mochida, A., Choyke, P. L., & Kobayashi, H. 2017. Nano-drug

- delivery: Is the enhanced permeability and retention (EPR) effect sufficient for curing cancer? *Physiology & Behavior*, 176(1), 100–106.
<https://doi.org/10.1177/0022146515594631>.Marriage
- [5] Brown, C. L., Whitehouse, M. W., Tiekink, E. R. T., & Bushell, G. R. 2008. *Review Colloidal metallic gold is not bio-inert*. 16, 133–137.
<https://doi.org/10.1007/s10787-007-0017-6>
- [6] Dimothe, K. R., & Rajeshree, K. 2022. *Synthesis 2,4,5 - Triphenyl Imidazole*. 10(6), 384–400.
- [7] Keuren, E. Van, & Nishida, M. 2009. Synthesis of nanocomposite materials using the reprecipitation method. *Computers, Materials and Continua*, 14(1), 61–77.
- [8] Quarta, A., Curcio, A., Kakwere, H., & Pellegrino, T. 2012. Polymer coated inorganic nanoparticles: Tailoring the nanocrystal surface for designing nanoprobe with biological implications. *Nanoscale*, 4(11), 3319–3334.
<https://doi.org/10.1039/c2nr30271c>
- [9] Nitta, S. K., & Numata, K. 2013. Biopolymer-based nanoparticles for drug/gene delivery and tissue engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(1), 1629–1654.
<https://doi.org/10.3390/ijms14011629>
- [10] Grasianto et al. Sensitive and simple multi-ion detection using organic nanocrystal enrichment in paper analytical devices. *Anal. Chim. Acta* 1273, 2023.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.341451>
- [11] Shrestha, S., Wang, B., & Dutta, P. 2020. Nanoparticle processing: Understanding and controlling aggregation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 279, 102162.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102162>
- [12] Lee, J. B., Ahn, J., Lee, J., & Kwak, H. S. 2003. The microencapsulated ascorbic acid release in vitro and its effect on iron bioavailability. *Archives of Pharmacal Research*, 26(10), 874–879.
<https://doi.org/10.1007/BF02980035>
- [13] Zhang, Z., Zhang, R., Chen, L., & McClements, D. J. 2016. Encapsulation of lactase (β -galactosidase) into κ -carrageenan-based hydrogel beads: Impact of environmental conditions on enzyme activity. *Food Chemistry*, 200, 69–75.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.014>

- [14] Estevinho, B. N., Rocha, F., Santos, L., & Alves, A. 2013. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 31(2), 138–155.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.04.001>
- [15] Amelia Bahetha, Kharisma Amalia Septia Putri, Harmami, Ita Ulfin, Firman Shantya Budi, Arif Fadlan, Mohd Hafidzal Mohd Hanafi, Muh. Nur Khoiru Wihadi, Grasianto. 2025. Screening of Nano-Drugs Dispersion of Imidazole Derivatives as Potential Anti-Cancer Agents. *Journal of Metastable and Nanocrystalline Materials*. Vol. 42, pp 57-66. doi:10.4028/p-SQx6L6
- [16] Mei, D., Lamaka, S. V., Lu, X., & Zheludkevich, M. L. 2020. Selecting medium for corrosion testing of bioabsorbable magnesium and other metals – A critical review. *Corrosion Science*, 171(May), 108722.
<https://doi.org/10.1016/j.corsci.2020.108722>
- [17] Yedomon, B., Fessi, H., & Charcosset, C. 2013. Preparation of Bovine Serum Albumin (BSA) nanoparticles by desolvation using a membrane contactor: A new tool for large scale production. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85(3 PART A), 398–405.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.06.014>
- [18] Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., & Klenk, D. C. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150(1), 76–85.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(85\)90442-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(85)90442-7)
- [19] Fahira, S. M., Dwi Ananto, A., & Hajrin, W. 2021. Analisis Kandungan Hidrokuinon Dalam Krim Pemutih yang Beredar Di Beberapa Pasar Kota Mataram Dengan Spektrofotometri Ultraviolet-Visisbel. *Spin*, 3(1), 75–84.
<https://doi.org/10.20414/spin.v3i1.3299>
- [20] Shittu, O. K., Lawal, B., Ojo, A. J., & Yisa, A. S. 2019. Polyethylene glycol – Modified nanocarrier encapsulation of diminazene aceturate improved haematobiochemical recovery in *Trypanosoma brucei brucei* infected rats. *Polish Journal of Natural Sciences*, 34(2), 317–332.
- [21] Zawidlak-Węgrzyńska, B., Rydz, J., Musioł, M., & Radziwon-Balicka, A. 2024. Polymer-Drug Anti-Thrombogenic and Hemocompatible

- Coatings as Surface Modifications.
Pharmaceutics, 16(3).
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030432>
- [22] Alfarouk, K. O., Verduzco, D., Rauch, C., Muddathir, A. K., Bashir, A. H. H., Elhassan, G. O., Ibrahim, M. E., Orozco, J. D. P., Cardone, R. A., Reshkin, S. J., & Harguindey, S. 2014. Glycolysis, tumor metabolism, cancer growth and dissemination. A new pH-based etiopathogenic perspective and therapeutic approach to an old cancer question. *Oncoscience*, 1(12), 777–802.
<https://doi.org/10.18632/oncoscience.109>
- [23] Dimothe, K. R., & Rajeshree, K. 2022. *Synthesis 2,4,5 - Triphenyl Imidazole*. 10(6), 384–400.
- [24] Liu, H., Tang, S. Y., Yun, G., Li, H., Zhang, Y., Qiao, R., & Li, W. 2020. Modular and Integrated Systems for Nanoparticle and Microparticle Synthesis—A Review. *Biosensors*, 10(11), 1–34.
<https://doi.org/10.3390/BIOS10110165>