



Optimasi Sintesa Nanokoloid Human Serum Albumin Sebagai Agen Limfoskintigrafi Menggunakan Central Composite Design-Response Surface Methodology

Optimization of Synthesis of Human Serum Albumin Nanocolloid as Lymphoscintigraphy Using Central Composite Design-Response Surface Methodology

Wening Lestari^{1*}, Sri Setiyowati¹, Triningsih¹, Khoirunnisa Fauziah Asyikin¹, Suharmadi¹, Mujamilah², Grace Tjungirai Sulungbudi², Sumandi Juliyanto¹

¹Pusat Riset dan Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka-BRIN, Tangerang Selatan, Indonesia

²Pusat Riset dan Teknologi Bahan Maju Nuklir-BRIN, Tangerang Selatan, Indonesia

*E-mail: wening@batan.go.id

Kata kunci:

Nanokoloid;
Human serum albumin; Central composite design; Response surface methodology

Keywords:

Nanocolloid;
Human serum albumin; Central composite design; Response surface methodology

Received:

28-07-2021

Revised:

10-01-2022

Accepted:

02-02-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(1):69-78

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i1.5071>

Abstrak

Prevalensi kanker di Indonesia semakin meningkat dan berbagai pengobatan kanker masih memiliki kekurangan, masih terjadi kekambuhan kanker. Limfosintigrafi merupakan salah satu metode untuk deteksi gangguan kelenjar limfatik, yang erat hubungannya dengan sel kanker. Nanokoloid human serum albumin sebagai agen limfosintigrafi terdiri dari partikel yang berukuran <100 nm dan ukuran ini merupakan parameter yang harus dipenuhi. Optimasi sintesis nanokoloid human serum albumin dengan metode *Central Composite Design Response Surface Methodology* dilakukan untuk mendapatkan ukuran partikel yang sesuai, dengan menggunakan variabel pH, suhu reaksi dan waktu reaksi. Metode yang digunakan dapat mengurangi waktu dan biaya yang diperlukan untuk optimasi sintesis. Hasil optimasi menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan berpengaruh secara signifikan. Kondisi optimum (prediksi) yang disarankan adalah sintesa pada pH 7, suhu reaksi 70°C dan waktu reaksi 24 menit. Ukuran partikel hasil prediksi perangkat lunak diverifikasi terhadap hasil percobaan di laboratorium dan berdasarkan analisa ANOVA diketahui bahwa nilai respon antara prediksi dan validasi lebih kecil dari 5% sehingga prediksi optimum dapat digunakan pada proses sintesa nanokoloid HSA.

Abstract

The prevalence of cancer in Indonesia is increasing and various cancer treatments still have shortcomings, cancer recurrence still occurs. Lymphoscintigraphy is a method for detecting disorders of the lymphatic system, which are closely related to cancer cells. Human serum albumin nanocolloid as a lymphoscintigraphic agent consists of particles measuring <100 nm and this size is a parameter that must be met. Optimization of the synthesis of HSA nano colloids with the Central Composite Design Response Surface Methodology method was carried out to obtain the appropriate particle size, using the variables of pH, reaction temperature and reaction time. The method used can reduce the time and cost required for synthesis optimization. The optimization results show that the developed method has a significant effect. The recommended optimum conditions (prediction) are synthesis at pH 7, reaction temperature of 70oC and reaction time of 24 minutes. The particle size prediction results from the software were verified against the experimental results in the laboratory and based on ANOVA analysis it was found that the response value between prediction and validation was smaller than 5%. The optimum prediction could be used in the HSA nano colloid synthesis process.

PENDAHULUAN

Jumlah penderita kanker di Indonesia terus mengalami peningkatan. Menurut Data Riset Kesehatan Dasar Kementerian Kesehatan tahun 2018, jumlah penderita penyakit kanker di Indonesia mencapai 1,79 per 1000 penduduk dibandingkan 1,4 per 1000 penduduk pada tahun 2013.¹⁻² Globocan melaporkan bahwa untuk penderita kanker dari jenis kelamin laki laki, kanker paru menempati tempat tertinggi disusul oleh kanker prostat dan kanker kolorektal. Sedang untuk penderita jenis kelamin perempuan, kanker payudara menempati tempat pertama diikuti kanker kolorektal dan kanker serviks.³

Berbagai pengobatan kanker seperti pembedahan, kemoterapi, radioterapi dan pengobatan tradisional masih memiliki kekurangan. Tindakan pembedahan tidak sepenuhnya mengangkat tumor, masih dapat menyebabkan kekambuhan tumor.⁴ Salah satu yang berkembang adalah penggunaan nanokoloid *human serum albumin* (HSA) yang ditandai dengan radioisotop teknesium-99m sebagai agen limfosintigrafi^{4,5}. Serum albumin merupakan protein yang paling melimpah dalam plasma, nontoksik, non-imunogenisitas, biokompatibilitas yang baik, dan stabil, kandidat penghantar obat yang baik.⁴ Metode limfosintigrafi dapat mendeteksi kelenjar limfatik yang mengandung sel tumor dan dikenal dengan sentinel lymph node, SLN.^{6,7} Produk komersial nanokoloid HSA sudah ada seperti Nanoalbumon[®], Nanocoll[®] dan Nanotop[®], sedangkan produk dalam negeri belum ada sehingga dikembangkan nanokoloid HSA produk dalam negeri. Nanokoloid HSA terdiri dari albumin yang berukuran ≤ 100 nm. Ukuran partikel ini merupakan parameter penting untuk nanokoloid HSA. Partikel yang besar akan terperangkap di tempat injeksi, tidak bisa masuk ke dalam system limfatik dan partikel yang terlalu kecil bisa menembus membran kapiler vascular dan keluar dari sistem limfatik.^{6,8} Pembentukan partikel dengan ukuran <100 nm memerlukan

optimasi beberapa parameter seperti pH, suhu reaksi dan waktu reaksi.⁹ Pengaruh dari beberapa parameter tersebut perlu dipelajari dan pada tahap ini yang dilakukan adalah mengubah salah satu parameter pada satu waktu. Metode ini mempunyai kelemahan yaitu tidak ekonomis karena memerlukan waktu yang lama dan bahan yang banyak. Untuk mengatasi hal tersebut telah berkembang pendekatan baru dengan *experimental design*¹⁰, menggunakan metode *response surface* untuk menemukan kondisi yang sesuai dalam menerapkan prosedur sehingga menghasilkan respon sebaik mungkin yang dapat mengurangi waktu dan biaya yang diperlukan dibandingkan dengan analisis satu variabel atau pembuatan desain factorial.¹¹⁻¹³ Ide dasar metode ini adalah memanfaatkan desain percobaan dengan bantuan analisis statistik untuk mencari nilai optimal dari suatu respon. Metode *response surface* merupakan alat yang efektif untuk mengkaji hubungan antara respon dengan beberapa (atau lebih dari dua) variabel. Dengan menyusun suatu model matematika, peneliti dapat mengetahui nilai variabel-variabel independen yang menyebabkan nilai variabel respon menjadi optimal.^{14,15}

Tujuan dari penelitian untuk mendapatkan kondisi optimum sintesa nanokoloid HSA sehingga mendapatkan ukuran partikel yang memenuhi syarat, sebanding dengan produk nanokoloid HSA komersil.

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain mikropipet (Eppendorf), *hot plate/magnetic stirrer* (MAG HS 7 IKA), penangas air (Corio C Julabo), batang pengaduk, neraca analitik (Sartorius BSA 323S-CW), gelas beaker (pyrex), labu ukur (pyrex), *Particle Size Analyzer* (PSA) *Zetasizer Nano ZS* (Malvern). Bahan yang digunakan Human Serum Albumin (Sigma-Aldrich), SnCl₂.2H₂O (Sigma-Aldrich), glukosa (Sigma-Aldrich), asam askorbat (Sigma-Aldrich), HCl 32% (E.Merck), Na₂HPO₄.

2H₂O (E.Merck), NaH₂PO₄.H₂O (E.Merck) untuk membuat larutan dapar fosfat 0,01 M pH 7,3, filter 0,22 micron (E.Merck), filter 0,1 micron (E.Merck), gas nitrogen (WAP), aquabides (IPHA, steril).

Prosedur kerja

Penentuan kondisi optimal produksi nanokoloid HSA dengan desain percobaan *Response Surface Methodology Central Composite*

Variabel bebas yang digunakan merupakan variabel yang secara langsung dapat memengaruhi ukuran partikel nanokoloid HSA hasil sintesis. Terdapat tiga variabel bebas yaitu pH, suhu reaksi, dan waktu reaksi. Ketiga variabel tersebut merupakan parameter kritis produksi dalam menentukan ukuran partikel (16,17) dan kestabilan (9, 18, 19) produk kit nano koloid HSA. Desain percobaan *Response*

Surface Methodology Central Composite dibuat menggunakan *software Design Expert® 11* untuk mencari kondisi optimal sintesa nanokoloid HSA. Desain percobaan menggunakan batas atas (+1), batas tengah (0), dan batas bawah (-1) (14). Hasil desain percobaan ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2.

Setelah memperoleh nilai ukuran partikel berdasarkan hasil sintesis nanokoloid HSA di laboratorium menggunakan desain percobaan pada Tabel 2, dilakukan analisis menggunakan *software Design Expert® 11* meliputi interaksi antar masing-masing faktor, uji statistik ANOVA untuk mengetahui apakah hasil menunjukkan nilai yang signifikan, dan penentuan prediksi nilai optimum dari setiap variabel bebas untuk memperoleh ukuran partikel nanokoloid HSA yang memenuhi kriteria.

Tabel 1. Pengkodean desain percobaan *Response Surface Methodology Central Composite* untuk sintesa nanokoloid HSA

| Parameter | Kode | Satuan | Batas Atas | Batas Tengah | Batas Bawah |
|--------------|------|--------|------------|--------------|-------------|
| pH | A | | 4 | 5,5 | 7 |
| Suhu reaksi | B | °C | 70 | 80 | 90 |
| Waktu reaksi | C | Menit | 15 | 37,5 | 60 |

Tabel 2. Desain percobaan *Response Surface Methodology Central Composite* untuk sintesa nanokoloid HSA dengan program *design expert*

| No. | A: pH | B: Suhu reaksi | C: Waktu reaksi |
|-----|-------|----------------|-----------------|
| 1 | 5,5 | 80 | 38 |
| 2 | 5,5 | 95 | 38 |
| 3 | 3 | 80 | 38 |
| 4 | 7 | 90 | 15 |
| 5 | 7 | 70 | 60 |
| 6 | 4 | 70 | 60 |
| 7 | 8 | 80 | 38 |
| 8 | 4 | 70 | 15 |
| 9 | 5,5 | 60 | 38 |
| 10 | 5,5 | 80 | 75 |
| 11 | 7 | 70 | 15 |
| 12 | 4 | 90 | 15 |
| 13 | 4 | 90 | 60 |
| 14 | 7 | 90 | 60 |

Sintesa nano koloid HSA

SnCl₂.2H₂O dilarutkan dengan HCl dan diencerkan dengan aquabides yang sudah dijenuhkan dengan gas nitrogen.^{9,18,19} Larutan SnCl₂.2H₂O ditambahkan ke dalam larutan asam askorbat dan glukosa dalam akuabides. Larutan albumin dan larutan dapar fosfat ditambahkan ke dalam larutan tersebut dan dijenuhkan dengan gas nitrogen selama 15 menit. pH larutan diatur dengan menambahkan larutan NaOH 0,1 N (9, 18). Larutan dipanaskan di dalam penangas air sambil di aduk dengan batang pengaduk selama waktu tertentu (sesuai dengan desain percobaan). Larutan disaring secara bertingkat dengan filter 0,22 micron dan 0,1 micron.

Analisa ukuran partikel dengan Dynamic Light Scattering (DLS)

Pengukuran partikel dilakukan dengan menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) dengan sudut detektor 173°C. Zeta potensial diukur pada sudut 12,8°C. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 633 nm.¹⁶

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesa nanokoloid HSA dilakukan berdasarkan nilai parameter input yang diperoleh dari desain percobaan menggunakan program *design expert* seperti pada Tabel 2. Data hasil ANOVA menggunakan *software Design Expert*^{® 11} dengan faktor pH, suhu reaksi dan waktu reaksi dengan respon ukuran partikel dari 14 percobaan dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil analisa ukuran partikel yang lebih besar dari 100 nm didapatkan pada 3 perlakuan percobaan, dan perlakuan percobaan yang lain diperoleh ukuran partikel lebih kecil dari 100 nm.

Untuk mengetahui signifikansi variabel-variabel bebas terhadap respon dalam suatu desain percobaan diperlukan uji ANOVA. Hasil analisis ANOVA dengan faktor pH (A), suhu reaksi (B), waktu reaksi (C), hubungan antara pH dengan suhu reaksi, pH dengan waktu reaksi, dan suhu reaksi dengan waktu reaksi

terhadap respon ukuran partikel berdasarkan kalkulasi menggunakan *software Design Expert*^{® 11} ditunjukkan pada pada Tabel 4. Nilai F menunjukkan pengaruh masing-masing variabel dan interaksinya pada respons ukuran partikel nanokoloid HSA. Semakin besar nilai F melebihi 1, semakin besar efek dari masing-masing variabel/interaksi pada respons.²⁰⁻²⁸. Berdasarkan data pada Tabel 4 hubungan saling mempengaruhi antara pH dengan suhu reaksi (AB) memiliki nilai F tertinggi sehingga perubahan kuantitas/perbandingan pada variabel ini sangat berdampak pada ukuran partikel nano koloid HSA yang dihasilkan. Akan tetapi, variabel independen pH, suhu reaksi, waktu reaksi, dan parameter dependen pH dengan waktu reaksi serta suhu reaksi dengan waktu reaksi juga berpengaruh terhadap ukuran partikel nanokoloid HSA. Hal ini dikarenakan semua variabel tersebut bernilai F positif yang menunjukkan efek sinergis dari semua variabel terhadap respon.^{20,22, 29-30}

Tabel 3. Data hasil analisa ukuran partikel dengan *software Design Expert*^{® 11}

| | Faktor 1 | Faktor 2 | Faktor 3 | Respon 1 |
|-----|----------|--------------------|------------------------|--------------------------|
| No. | A:pH | B:Suhu reaksi (°C) | C:Waktu reaksi (menit) | Z- <i>Average</i> (d.nm) |
| 1 | 5.5 | 80 | 38 | 94.26 |
| 2 | 5.5 | 95 | 38 | 27.6 |
| 3 | 3 | 80 | 38 | 28.61 |
| 4 | 7 | 90 | 15 | 23.32 |
| 5 | 7 | 70 | 60 | 22.2 |
| 6 | 4 | 70 | 60 | 432.1 |
| 7 | 8 | 80 | 38 | 20.56 |
| 8 | 4 | 70 | 15 | 6908 |
| 9 | 5.5 | 60 | 38 | 82.93 |
| 10 | 5.5 | 80 | 75 | 28.45 |
| 11 | 7 | 70 | 15 | 50 |
| 12 | 4 | 90 | 15 | 429.2 |
| 13 | 4 | 90 | 60 | 28.45 |
| 14 | 7 | 90 | 60 | 22.38 |

Signifikansi dari suatu model atau desain percobaan ditentukan dengan nilai p. Nilai p lebih kecil dari 0,05 mengindikasikan variabel-variabel dalam suatu desain percobaan berdampak signifikan terhadap respon.^{20,23-25,28} Nilai p dari model desain percobaan yang dibuat adalah 0,0379 (<0,05) mengindikasikan desain tersebut berdampak signifikan terhadap respon ukuran partikel. Secara statistik variabel yang memiliki nilai p lebih dari 0,1 dapat dihilangkan dari model. Berdasarkan data pada Tabel 4 variabel independen pH dan suhu reaksi memiliki nilai p lebih dari 0,1. Tetapi penghapusan kedua variabel dari model tidak dapat dibenarkan karena nilai p variabel dependen pH dengan suhu reaksi bernilai di bawah 0,1.^{20,27,29, 25}

Tabel 4. Hasil analisis ANOVA desain percobaan sintesa nano koloid HSA

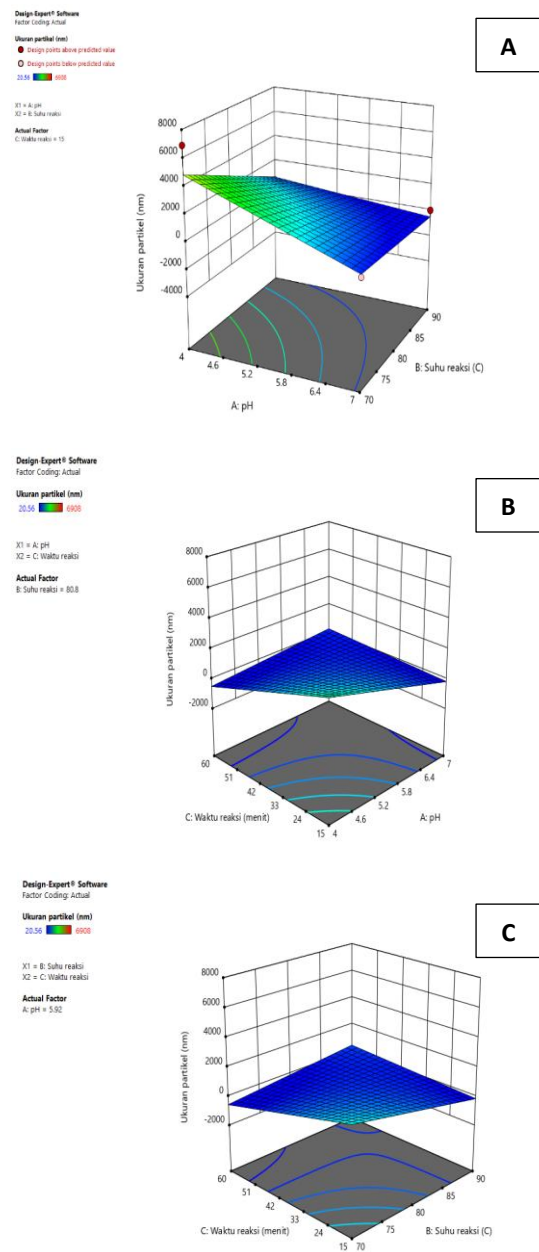
| Source | Sum of Squares | df | Mean square | F-value | p-value | |
|----------------|-----------------------|----|-----------------------|---------|---------|-------------|
| Model | 2.987×10 ⁷ | 6 | 4.979×10 ⁶ | 3.55 | 0.0379 | significant |
| A-pH | 4.334×10 ⁶ | 1 | 4.334×10 ⁶ | 3.09 | 0.1094 | |
| B-Suhu reaksi | 3.590×10 ⁶ | 1 | 3.590×10 ⁶ | 2.56 | 0.1409 | |
| C-Waktu reaksi | 5.556×10 ⁶ | 1 | 5.556×10 ⁶ | 3.96 | 0.0747 | |
| AB | 5.876×10 ⁶ | 1 | 5.876×10 ⁶ | 4.19 | 0.0680 | |
| AC | 5.862×10 ⁶ | 1 | 5.862×10 ⁶ | 4.18 | 0.0683 | |
| BC | 4.654×10 ⁶ | 1 | 4.654×10 ⁶ | 3.32 | 0.0987 | |
| Residual | 1.404×10 ⁷ | 10 | 1.404×10 ⁶ | | | |
| Lack of Fit | 1.404×10 ⁷ | 7 | 2.006×10 ⁶ | | | |
| Pure Error | 0 | 3 | 0 | | | |
| Cor Total | 4.391×10 ⁷ | 16 | | | | |

Oleh karena itu diperlukan validasi nilai optimum masing-masing faktor pH, suhu reaksi, dan waktu reaksi menggunakan

metode respon permukaan yang dapat menganalisis lebih dari dua parameter dalam satu waktu.²¹⁻²²

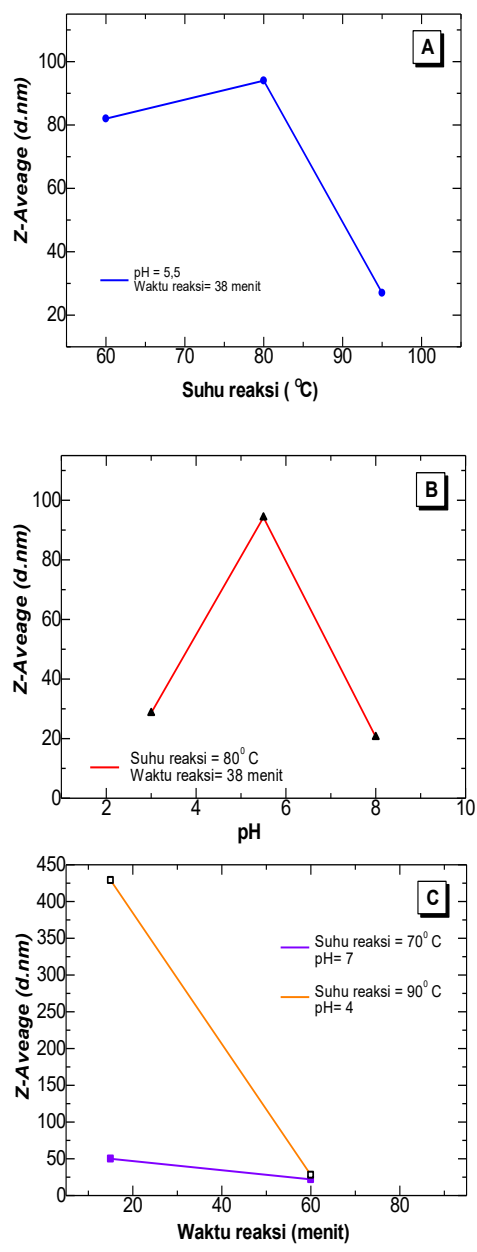
Fungsi *desirability* merupakan metode yang digunakan untuk mendapatkan kondisi optimal antara faktor yang saling berinteraksi. Pada suatu kondisi yang melibatkan beberapa faktor saling berinteraksi untuk mempengaruhi respon diperoleh nilai *desirability* mendekati satu, maka pada kondisi tersebut paling efektif dan efisien untuk mendapatkan respon yang diinginkan. Metode analisis ini dapat digunakan untuk menjelaskan hubungan pH, suhu reaksi dan waktu reaksi terhadap respon ukuran partikel.^{20,25-26,28-29} Akurasi analisis fungsi *desirability* dapat dibandingkan berdasarkan analisis plot kontur tiga dimensi.^{20,25-26} Gambar 1 adalah plot tiga dimensi dan kontur yang menunjukkan perubahan ukuran partikel nanokoloid HSA yang dihasilkan sebagai fungsi dari konsentrasi pH, suhu reaksi, dan waktu reaksi. Seperti yang ditunjukkan di sisi kiri Gambar 1, warna biru menunjukkan ukuran nano koloid HSA terkecil dan warna merah mewakili ukuran nano koloid HSA terbesar. Garis pada plot kontur mewakili ukuran nano koloid HSA relatif terhadap kondisi eksperimental yang sesuai. Bentuk permukaan dari pengaruh pH dan suhu reaksi terhadap respon ukuran partikel dapat dilihat pada Gambar 1A. Faktor pH menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap respon ukuran partikel. Hal tersebut dapat dilihat dari perubahan warna kurva, perubahan pH dengan suhu reaksi yang sama memperlihatkan adanya perubahan warna. Perubahan warna menunjukkan bahwa perubahan pH memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ukuran partikel. Faktor suhu reaksi menunjukkan pengaruh yang tidak signifikan terhadap ukuran partikel. Hal ini dapat dilihat dari perubahan warna pada kurva, perubahan suhu reaksi dengan pH yang tetap tidak terlalu memperlihatkan perubahan warna. Perubahan warna yang sedikit ini menunjukkan kecilnya pengaruh suhu reaksi terhadap ukuran partikel.²⁰⁻²¹

Pada pengaruh pH dan waktu reaksi terhadap respon ukuran partikel menunjukkan pengaruh pH lebih signifikan terhadap respon ukuran partikel dibandingkan waktu reaksi (Gambar 1B). Pada pengaruh suhu reaksi dan waktu reaksi terhadap respon ukuran partikel menunjukkan pengaruh waktu reaksi lebih signifikan terhadap respon ukuran partikel dibandingkan suhu reaksi (Gambar 1C).



Gambar 1. Kurva pengaruh (A) pH reaksi dan suhu reaksi, (B) pH dan waktu reaksi, (C) suhu reaksi dan waktu reaksi terhadap respon ukuran partikel yang dihasilkan dari *Design Expert® 11*

Hal ini menunjukkan analisis fungsi *desirability* memiliki akurasi yang tinggi sehingga hasil optimasi faktor-faktor yang diperoleh dari desain percobaan dapat diterapkan saat sintesa di laboratorium.^{14,20-21, 25-26} Karena ketiga faktor saling memengaruhi (tidak independen) terhadap ukuran nanokoloid HSA, maka salah satu faktor tidak bisa dihilangkan dalam model/desain percobaan.



Gambar 2. Interaksi (A) Suhu reaksi, (B) pH, dan (C) waktu reaksi terhadap respon ukuran partikel

Interaksi antara pH, suhu reaksi, dan waktu reaksi secara independen terhadap ukuran partikel nanokoloid HSA ditunjukkan pada Gambar 2. Pada kondisi sintesis nanokoloid HSA dengan pH 5,5 dan waktu reaksi 38 menit (Gambar 2A) kenaikan suhu reaksi dari 60°C menuju 80°C menyebabkan kenaikan ukuran partikel dikarenakan pembentukan inti koloid berukuran nano yang belum stabil. Selanjutnya jika suhu reaksi dinaikkan menjadi 90°C ukuran partikel nanokoloid HSA menjadi lebih kecil dibandingkan saat suhu reaksi 60°C dan 80°C. Hal ini disebabkan kenaikan suhu reaksi lebih lanjut menyebabkan konversi cepat larutan menjadi koloid sehingga terjadi pembentukan partikel dengan ukuran yang lebih kecil.³¹ Kenaikan suhu reaksi lebih lanjut (lebih tinggi dari 90°C tidak disarankan karena menyebabkan degradasi asam amino dalam HSA¹⁰ dan menyebabkan aglomerasi koloid berukuran nano akibat terhambatnya inti *capping* partikel yang baru terbentuk.¹⁶ Pengaruh pH terhadap ukuran partikel dapat diamati pada Gambar 2B. Pada lingkungan pH asam ukuran partikel nanokoloid HSA yang terbentuk lebih besar dibandingkan pada lingkungan pH yang lebih tinggi (netral atau basa). Kestabilan nanopartikel sangat baik pada kondisi pH lingkungan netral atau basa karena permukaan nanopartikel pada kondisi tersebut menghasilkan tolakan elektrostatik antar partikel yang menghambat agregasi nanopartikel.³¹ Penggunaan pH sekitar 7 (mendekati pH fisiologis darah) seperti yang dilakukan oleh Yunilda, dkk sangat disarankan karena aplikasi nanokoloid HSA yang merupakan sediaan injeksi intravena.^{10,16-17} Distribusi ukuran nanokoloid HSA juga dipengaruhi oleh waktu reaksi yang digunakan (Gambar 2C). Semakin lama waktu reaksi yang digunakan dalam sintesis nanokoloid HSA ukuran partikel yang dihasilkan menjadi lebih kecil. Hal ini berkaitan dengan pembentukan inti nanopartikel yang masih terus berlangsung sehingga semakin besar luas permukaan nanopartikel yang dihasilkan (ukuran nanopartikel menjadi lebih kecil).

Akan tetapi, waktu reaksi yang terlalu lama saat sintesis berlangsung menggunakan pemanasan dapat menyebabkan degradasi komponen penyusun nanopartikel sehingga sistem *capping* yang terbentuk dapat rusak.^{16,31} Oleh karena itu, menentukan komposisi yang tepat dari pH, suhu reaksi, dan waktu reaksi yang digunakan saat proses sintesis sangat penting untuk menghasilkan nanokoloid HSA yang memenuhi standar ukuran partikel dan sediaan injeksi intravena.

Untuk mendapatkan nanokoloid HSA dengan ukuran di bawah 100 nm saat proses produksi, maka ketiga faktor tersebut perlu ditentukan nilai optimumnya sehingga tahapan produksi dapat maju ke skala pilot. Penentuan kondisi optimum ini didasarkan pada kriteria (ukuran partikel) yang kita inginkan. Berdasarkan pengolahan kriteria menggunakan *software Design Expert® 11* diperoleh kondisi optimum pH 7, suhu reaksi 70°C dan waktu reaksi 24 menit dengan respon ukuran partikel stabil pada ±30 nm. Kondisi optimum ini kemudian dilakukan tahap validasi untuk mengetahui tingkat ketepatan kondisi tersebut. Validasi dilakukan dengan menerapkan kondisi optimum dengan tiga kali pengulangan. Perbandingan hasil validasi dengan hasil prediksi program dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan antara hasil optimasi dengan hasil validasi

| | pH | suhu reaksi (°C) | waktu reaksi (menit) | Respon Z-Average (d.nm) |
|-----------------------|----|------------------|----------------------|-------------------------|
| Prediksi ¹ | 7 | 70 | 24 | 30 |
| Validasi ² | 7 | 70 | 24 | 31 ± 9,76 |
| Nilai perbedaan | | | | 0,063 |

Keterangan : ¹ Hasil dari *Design Expert® 11*

² Data hasil percobaan

Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa perbedaan nilai respon ukuran partikel hasil validasi dengan hasil diprediksi adalah 0,063%. Perbedaan nilai respon antara prediksi dan validasi lebih kecil dari 5% mengindikasikan hasil validasi sesuai dengan hasil prediksi¹⁵ sehingga kondisi optimum ini dapat digunakan pada proses

produksi nanokoloid HSA selanjutnya/rutin.

KESIMPULAN

Kondisi optimum sintesa nano koloid HSA dilakukan pada pH 7, suhu reaksi 70°C dan waktu reaksi 24 menit sesuai dengan hasil prediksi menggunakan *Design Expert*[®] 11. Ukuran partikel hasil percobaan di laboratorium tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap hasil prediksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh tim di Kemenristekdikti dan LPDP yang membantu dalam proses pembiayaan kegiatan ini melalui Program LPDP Mandatory. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Dr. Rohadi Awaludin, Drs. Agus Ariyanto, M.Farm, dan tim litbang Pusat Teknologi Radioisotop dan RadiofarmakobATAN atas dukungan, saran dan bantuannya pada penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia [Internet]. 2018;1–100. Available from: <http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/hasil-risikesdas-2018.pdf>
2. Kementerian Kesehatan. Situasi penyakit kanker 4. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2015
3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*. 2015; Mar 1;136(5):E359-86
4. Shen X, Liu X, Li T, Chen Y, Chen Y, Wang P, et al. Recent Advancements in Serum Albumin-Based Nanovehicles Toward Potential Cancer Diagnosis and Therapy. *Frontiers in Chemistry*. 2021; 9(November):1–19.
5. International atomic energy agency. Radiopharmaceuticals for Sentinel Lymph Node Detection: Status and Trends Iaea Radioisotopes and Radiopharmaceuticals Series Publications. International Atomic Energy Agency. Radioisotop Radiopharmaceuticals Series [Internet]. 2015;6(6). Available from: <http://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/Pub1674web-3264500.pdf>
6. Persico MG, Lodola L, Buroni FE, Morandotti M, Pallavicini P, Aprile C. 99mTc-human serum albumin nanocolloids: Particle sizing and radioactivity distribution. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 2015;58(9):376–82.
7. Moncayo VM, Aarsvold JN, Alazraki NP. Lymphoscintigraphy and Sentinel Nodes. *Journal of Nuclear Medicine*. 2015 Jun; 56(6): 901–7.
8. Giammarile F, Alazraki N, Aarsvold JN, Audisio RA, Glass E, Grant SF, et al. The EANM and SNMMI practice guideline for lymphoscintigraphy and sentinel node localization in breast cancer. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2013 Dec; 49(12): 1932-47
9. Widyasari EM, Oekar NK. Formulasi Kit Human Serum Albumin (Hsa)-Nanosfer Sebagai Radiofarmaka Untuk Studi Limfositografi Di Kedokteran Nuklir. Formulasi kit Hum Serum Albumi (HSA)-Nanos sebagai Radiofarmaka untuk Stud Limfositografi di Kedokteran Nuklir. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*. 2012;123(23):49-60.
10. Yunilda, Awaludin R, Susilo VY, Setiowati S, Widjaksana W. Preparasi Radiofarmaka Nanokoloid Human Serum Albumin (HSA) untuk Limfositografi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2017;7(1):19–25.
11. Hidayat IR, Zuhrotun A, Sopyan I. Design-Expert Software sebagai Alat Optimasi Formulasi Sediaan Farmasi. *Majalah Farmasetika*. 2021;6(1):99–120.
12. Raghupathy R. Optimization of Casting Process Based on Box Behnken Design and Response. *International Journal Quality of Research*. 2014;8(4):569–82.
13. Marastani DR Al. It is not a visit; it is a journey. The Customer Journey Mapping (CJM). *Journal of Pharmaceutical Care Health System*. 2018; 05:4172.
14. Chakraborty P, Dey S, Parcha V, Bhattacharya SS, Ghosh A. Design expert supported mathematical optimization and

- predictability study of buccoadhesive pharmaceutical wafers of loratadine. *Biomed Research International*. 2013;2013: 1-12
15. Behera SK, Meena H, Chakraborty S, Meikap BC. Application of response surface methodology (RSM) for optimization of leaching parameters for ash reduction from low-grade coal. *International Journal of Mining Science and Technology* [Internet]. 2018;28(4):621–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijmst.2018.04.014>
 16. Akbarian A, Ebtekar M, Pakravan N, Hassan ZM. Folate receptor alpha targeted delivery of artemether to breast cancer cells with folate-decorated human serum albumin nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020 Jun 1;152: 90-101.
 17. Jiang M, Li S, Wu J, Li W, Wen X, Liang H, Yang F. Designing biotin-human serum albumin nanoparticles to enhance the targeting ability of binuclear ruthenium (III) compound. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2018. 215: 111318
 18. Arjun C, Mukherjee A, Bhatt J, Chaudhari P, Repaka KM, Venkatesh M, Samuel G. Studies on batch formulation of a kit for the preparation of the ^{99m}Tc-Ubiquicidin (29-41): An infection imaging agent. *Applied Radiation and Isotopes*. 2016;107: 8-12.
 19. Mukherjee A, Korde A, Shinto A, Sarma HD, Kamaleswaran K, Dash A. Studies on batch formulation of a freeze dried kit for the preparation of ^{99m}Tc-HYNIC-TATE for imaging neuroendocrine tumors. *Applied Radiation and Isotopes*. 2019;145: 180-186.
 20. Lalegani Z, Ebrahimi SAS. Optimization of synthesis for shape and size-controlled silver nanoparticles using response surface methodology. *Colloids and Surfaces*. 2020; 595: 124647.
 21. Kumaran J, Poulouse S, Joseph V, Singh ISB. Enhanced biomass production and proximate composition of marine microalga *Nannochloropsis oceanica* by optimization of medium composition and culture conditions using response surface methodology. *Animal Feed Science and Technology*. 2021; 271: 114761.
 22. Popoola LT. Nano-magnetic walnut shell-rice husk for Cd(II) sorption: design and optimization using artificial intelligence and design expert. *Heliyon*. 2019; 5: e02381.
 23. Iwar RT, Ogedengbe K, Katibi KK, Oshido LE. Meso-microporous activated carbon derived from *Raffia* palm shells: optimization of synthesis conditions using response surface methodology. *Heliyon*. 2021; 7: e07301.
 24. Devi Sunaja KR, Prasanna V, D'sa F, Shetty KR, Miranda JR, Pinheiro D, et.al. Response surface optimization and process design for glycidol synthesis using potassium modified rice husk silica. In: Anas S, Manoj PK, Abdul Karim MK, Tharun A. Rauf, editors. *International Conference Energy and Environment; Materials Today Proceedings-Elsevier Ltd*; 2021. p. 506-512. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.234>.
 25. Dominguez RE, Pfaffen V, Arguello GA, Iriarte AG. Microwave-assisted conditions for the green synthesis of thioacetamide. Optimization of reaction parameters using response surface methodology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2018; 9: 51-62.
 26. Gonzalez-Vega RI, Cardenaz-Lopez JL, Lopez-Elias JA, Ruiz-Cruz S, Reyes-Diaz A, Perez-Perez LM, Cinco-Moroyoqui FJ, Robles-Zepeda, RE, Borboa-Flores J, Del-Toro-Sanchez CL. Optimization of growing conditions for pigments production from microalga *Navicula incerta* using response surface methodology and its antioxidant capacity. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020; 28(2): 1401-16
 27. Hosseini SA, Alvarez-Galvan MC. Study of physical–chemical properties and catalytic activities of ZnCr₂O₄ spinel nano oxides obtained from different methods— Modeling the synthesis process by response surface methodology and optimization by genetic algorithm. *Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2016; 61(C): 261-9.
 28. Amirov N, Vakhshouri AR. Numerical modeling and optimization of product selectivity and catalyst activity in Fischer-Tropsch synthesis via response surface methodology: Cobalt carbide particle size and H₂/CO ratio effects. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2020.45(56). 31913-25

29. Dheyab MA, Aziz AA, Jameel MS. Synthesis and optimization of the sonochemical method for functionalizing gold shell on Fe₃O₄ core nanoparticles using response surface methodology. *Surfaces and Interfaces*. 2020; 21: 100647.
30. Pratama HB, Supijo, MC, Sutopo. Experimental design and response surface method in geothermal energy: A comprehensive study in probabilistic resource assessment. *Geothermics*. 2020; 87: 101869.
31. Tausif Ahmad, Jibrán Iqbal, Mohamad Azmi Bustam, Muhammad Irfan, Hafiz Muhammad Anwaar Asghar. 2021. A critical review on phytosynthesis of gold nanoparticles: Issues, challenges and future perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 2021; 309: 127460.