

Kajian Pengembangan Sediaan Nanokapsul Terkonjugasi Asam Folat untuk Penghantaran Tertarget Agen Sitotoksik pada Terapi Kanker

Neneng Alifia Nur Fauziah*, Sani Ega Priani, Dina Mulyanti

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*nenengalifia5@gmail.com, egapriani@gmail.com, dina.sukma83@gmail.com

Abstract. Cytotoxic agents used in cancer therapy generally have low selectivity. The development of targeted drug delivery systems can be selected to increase the selectivity of cytotoxic agents. Nanocapsules can be used as carriers in targeted delivery systems to be conjugated by targeting moiety that can bind specifically to receptors. The receptor that is overexpressed on cancer cells is the folate receptor, so the targeting moiety used is folic acid. This study aims to examine the formulation and manufacturing method of folic acid conjugated nanocapsules containing cytotoxic agents, examine the effect of developing folic acid conjugated nanocapsules on cytotoxic activity, and examine the effect of folic acid conjugation in nanocapsules on cytotoxic selectivity. This study was conducted using the Systematic Literature Review (SLR) method. The results showed that folic acid conjugated nanocapsules had been developed for cytotoxic agents such as coumarin, 4-nitrochalcone, doxorubicin, tamoxifen, and quercetin, with interface deposition methods as well as chitosan polymer and PLGA-PEG polymer combination which were widely used. The development of nanocapsules conjugated with folic acid can increase cytotoxic activity characterized by % inhibition of cell growth/IC50/% cell viability. Folic acid conjugation in nanocapsules was able to increase cytotoxic selectivity characterized by % cell viability and fluorescence intensity. It can be concluded that the development of a targeted cytotoxic agent delivery system can increase the selectivity and safety of its use in cancer therapy.

Keywords: *Targeted Drug Delivery System, Nanocapsules, Folic Acid, Anticancer.*

Abstrak. Agen sitotoksik yang digunakan pada terapi kanker umumnya memiliki selektivitas yang rendah. Pengembangan sistem penghantaran obat tertarget dapat dipilih untuk meningkatkan selektivitas agen sitotoksik. Nanokapsul dapat digunakan sebagai pembawa pada sistem penghantaran tertarget yang akan dikonjugasikan oleh agen penarget yang dapat berikatan secara spesifik dengan reseptor. Reseptor yang banyak diekspresikan pada sel kanker yaitu reseptor folat, sehingga agen penarget yang digunakan yaitu asam folat. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji mengenai formulasi dan metode pembuatan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik, mengkaji pengaruh pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat terhadap aktivitas sitotoksik, dan mengkaji pengaruh konjugasi asam folat pada nanokapsul terhadap selektivitas sitotoksik. Kajian ini dilakukan dengan metode Systematic Literature Review (SLR). Hasil penelitian menunjukkan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat sudah dikembangkan untuk agen sitotoksik seperti kumarin, 4-nitrokalkon, doxorubicin, tamoxifen, dan quercetin, dengan metode deposisi antarmuka serta polimer kitosan dan kombinasi PLGA-PEG yang banyak digunakan. Pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mampu meningkatkan aktivitas sitotoksik ditandai dengan % penghambatan pertumbuhan sel/IC50/% viabilitas sel. Konjugasi asam folat pada nanokapsul mampu meningkatkan selektivitas sitotoksik ditandai dengan % viabilitas sel dan intensitas fluoresensi. Dapat disimpulkan bahwa pengembangan sistem penghantaran agen sitotoksik tertarget mampu meningkatkan selektivitas dan keamanan penggunaannya pada terapi kanker.

Kata Kunci: *Sistem Penghantaran Obat Tertarget, Nanokapsul, Asam Folat, Antikanker.*

A. Pendahuluan

Kanker merupakan pertumbuhan sel abnormal yang cepat pertumbuhannya dan melampaui batas yang selanjutnya sel tersebut dapat menyerang bagian tubuh yang berdampingan dan menyebar ke organ lainnya [14]. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas), prevalensi kanker di Indonesia menunjukkan adanya peningkatan dari 1,4% per 1.000 penduduk di tahun 2013 menjadi 1,79% per 1.000 penduduk pada tahun 2018 [9].

Dalam beberapa dekade terakhir, metode pengobatan kanker dilakukan dengan pembedahan, radiasi, dan kemoterapi. Salah satu upaya pengobatan yang banyak dilakukan untuk berbagai jenis kanker pada saat ini yaitu kemoterapi. Kemoterapi adalah pengobatan kanker dengan menggunakan obat atau agen sitotoksik yang akan merusak DNA dan bertindak sebagai inhibitor umum pada pembelahan sel [21]. Pengobatan dengan kemoterapi memiliki selektivitas yang rendah karena selain dapat membunuh sel kanker ia juga dapat membunuh sel normal. Tingginya resiko efek samping dari kemoterapi menyebabkan banyak upaya yang dilakukan untuk meningkatkan selektivitas dari penggunaan agen sitotoksik ini [22].

Salah satu upaya untuk menurunkan efek samping dan meningkatkan selektivitas penggunaan agen sitotoksik yaitu dengan *targeted drug delivery system* (TTDS) atau sistem penghantaran obat tertarget. TTDS adalah sistem penghantaran obat yang akan menghantarkan obat secara selektif pada target kerjanya. Sistem penghantaran obat tertarget pada pengobatan kanker akan dapat menurunkan efek samping yang dapat terjadi pada sel-sel normal, karena sistem penghantaran obatnya akan lebih tertarget pada sel kanker sehingga efek terapeutik yang dihasilkannya akan semakin optimal [5, 12].

Untuk mengembangkan sistem penghantaran tertarget dibutuhkan tiga komponen utama yaitu agen terapeutik, *targeting moiety*, dan *carrier* [12]. Komponen khas dari sistem penghantaran tertarget yaitu *targeting moiety* yang berfungsi sebagai bagian yang akan membantu membawa obat secara selektif pada target kerjanya [21]. Salah satu *targeting moiety* yang banyak digunakan untuk penghantaran tertarget agen sitotoksik adalah asam folat. Asam folat telah banyak digunakan sebagai *targeting moiety* yang menjanjikan dalam pengobatan kanker [18]. Ini disebabkan karena asam folat mampu berikatan secara spesifik dengan reseptor folat yang ada di permukaan sel dimana reseptor folat jauh lebih banyak diekspresikan di sel kanker dibandingkan di sel normal, sehingga asam folat dapat digunakan untuk mengoptimalkan penghantaran obat antikanker ke sel kanker [5].

Untuk mengoptimalkan penghantaran tertarget agen sitotoksik diperlukan suatu *carrier*. Salah satu *carrier* yang banyak digunakan adalah nanokapsul. Nanokapsul merupakan suatu sistem penghantar obat dalam ukuran nanometer yang akan mengenkapsulasi suatu obat oleh lapisan atau membran polimer. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa nanokapsul terkonjugasi asam folat dapat meningkatkan penghantaran obat pada target kerjanya, sehingga nanokapsul terkonjugasi asam folat ini akan meningkatkan selektivitas penghantaran agen sitotoksik pada sel kanker [1, 5].

Berdasarkan latar belakang tersebut maka rumusan masalah pada penelitian ini yaitu bagaimana strategi formulasi untuk pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik, bagaimana pengaruh pengembangan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik terhadap aktivitas sitotoksik, dan bagaimana pengaruh konjugasi asam folat pada nanokapsul mengandung agen sitotoksik terhadap selektivitas sitotoksik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji mengenai formulasi dan metode pembuatan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik, untuk mengkaji mengenai pengaruh pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik terhadap aktivitas sitotoksik, dan untuk mengkaji mengenai pengaruh konjugasi asam folat pada nanokapsul mengandung agen sitotoksik terhadap selektivitas sitotoksik.

B. Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode *Systematic Literature Review* (SLR). Dilakukan dengan pencarian artikel pada database bereputasi seperti *Science Direct*, *Springer Link*, *Taylor & Francis*, *Research Gate*, *Pubmed*, dan *Google Scholar*. Pencarian artikel pada

database tersebut dilakukan dengan menggunakan kata kunci pencarian ‘*Targeted drug delivery system*’ AND ‘*Nanocapsules*’ AND ‘*Folic acid*’ AND ‘*Anticancer*’.

Penyaringan dan penentuan artikel dilakukan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Adapun kriteria inklusi yang ditetapkan yaitu artikel penelitian mengenai pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik, artikel penelitian yang dipublikasi 10 tahun terakhir (2012-2022), artikel penelitian dalam bentuk *full text*, dan artikel yang menggunakan bahasa Inggris atau bahasa Indonesia. Sedangkan kriteria eksklusi yang ditetapkan yaitu artikel dengan tipe artikel *review article*, artikel yang tidak terindeks scopus, dan artikel tentang pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik tanpa data evaluasi fisik, data uji aktivitas sitotoksik, dan data uji selektivitas sitotoksik.

Berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan diperoleh 7 artikel yang sesuai. Dimana pada artikel yang terpilih dilakukan ekstrak data meliputi data aspek formulasi, karakterisasi sediaan, aktivitas sitotoksik, dan selektivitas sitotoksik. Selanjutnya dari data yang diperoleh didapatkan hasil *review*, kemudian dibentuk laporan dalam bentuk skripsi.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Strategi Formulasi Sediaan Nanokapsul Terkonjugasi Asam Folat Mengandung Agen Sitotoksik

Salah satu zat aktif yang banyak dikembangkan menjadi sediaan nanokapsul adalah agen sitotoksik. Agen sitotoksik merupakan suatu senyawa yang dapat merusak dan membunuh sel yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor malignan, sehingga agen sitotoksik umum digunakan pada terapi kanker, dimana terapi kanker yang menggunakan agen sitotoksik ini disebut dengan kemoterapi. Akan tetapi di dalam kemoterapi, penggunaan agen sitotoksik tidak selektif terhadap sel kanker, ia juga bisa saja merusak atau membunuh sel normal.

Untuk mengatasi hal tersebut, pada saat ini telah banyak dilakukan penelitian mengenai pengembangan sistem penghantaran agen sitotoksik, yang mana agen sitotoksik ini banyak dikembangkan menjadi nanokapsul yang dikonjugasikan dengan asam folat. Asam folat merupakan vitamin yang memiliki afinitas tinggi terhadap reseptor folat. Sebagaimana telah diketahui bahwa reseptor folat diidentifikasi sebagai penanda tumor karena reseptor folat diekspresikan secara berlebih pada permukaan sel kanker manusia [5, 13, 24]. Hal ini menyebabkan asam folat dapat digunakan sebagai agen penargetan untuk dikonjugasikan terhadap sistem pembawa obat karena asam folat memiliki ikatan yang sangat kuat dengan reseptor folat, sehingga akhirnya akan menghasilkan suatu sistem penghantaran obat antikanker dengan pengiriman yang tertarget [13].

Dari hasil kajian yang dilakukan sudah banyak penelitian yang mengembangkan agen sitotoksik dengan sistem pembawa nanokapsul terkonjugasi asam folat seperti kumarin 6 (C6), doxorubicin, 4-nitrokalkon (4NC), tamoxifen, dan quercetin. Hasil kajian ditampilkan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil penelitian, dasar pengembangan agen sitotoksik menjadi nanokapsul terkonjugasi asam folat yaitu karena efek samping yang ditimbulkan oleh agen sitotoksik seperti munculnya resistensi obat, kemudian pengobatannya tidak selektif terhadap sel kanker sehingga keamanan pengobatannya rendah, dan kelarutan agen-agen sitotoksik dalam air yang sangat rendah karena sebagian besar agen sitotoksik ini bersifat hidrofobik [13]. Maka, dengan dilakukannya pengembangan agen sitotoksik menjadi nanokapsul terkonjugasi asam folat akan dapat mengenkapsulasi atau memuat lebih banyak molekul obat antikanker hidrofobik, dapat mengurangi toksisitas dari agen-agen sitotoksik, dan dapat meningkatkan profil farmakokinetika obat antikanker tersebut [8].

Tabel 1. Hasil Penelusuran pustaka formulasi dan karakterisasi nanokapsul

No	Zat Aktif	Metode Pembuatan	Polimer	Metode Konjugasi Asam Folat	Hasil Karakterisasi	Pustaka
1	Kumarin 6 (C6)	Sonokimia	Kitosan	Melarutkan asam folat dalam DMSO, lalu di+ EDC dan NHS, lalu diaduk dalam kondisi gelap	Ukuran: ± 800 nm; 200 - 350 nm Zeta Potensial: $+35,7 \pm 3,5$ mv	Cui <i>et al.</i> , 2017; Zhong <i>et al.</i> , 2017
			Karboksimetil selulosa	Melarutkan asam folat dalam DMSO, lalu di+ EDC dan NHS, lalu diaduk dalam kondisi gelap	Ukuran: 200 – 300 nm % EE: 96 %	He <i>et al.</i> , 2021
2	Doxorubicin	Deposisi Antarmuka	Kitosan	Melarutkan asam folat dalam DMSO, lalu di+ EDC dan NHS, lalu diaduk dalam kondisi gelap	Ukuran: 128 ± 19 nm PDI: $0,21 \pm 0,04$ Zeta Potensial: $+10 \pm 2$ mV	Ce <i>et al.</i> , 2021
3	4-nitrokalkon (4NC)	Polimerasi Miniemulsi	Poly (methyl methacrylate) (PMMA)	Fase organik (4NC, PMMA) ditambahkan tetes demi tetes ke dalam fase air (air suling) yang mengandung asam folat dalam kondisi sonikasi	Ukuran: 170 ± 6 nm PDI: $\pm 0,1$ % EE: 80 % Zeta Potensial: -40 ± 4 mV	Carvio Arevalo <i>et al.</i> , 2019
4	Tamoxifen	Deposisi antarmuka	Poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) – polyethylene glycol (PEG) (PLGA – PEG)	1) Mereaksikan PLGA-COOH dengan bis-amina PEG \rightarrow PLGA-NH-PEG-NH2 2) PLGA-NH-PEG-NH2 + FA \rightarrow polimer PLGA-NH-PEG-NH-FA	Ukuran: $\pm 87,5$ nm % EE: 58 %	Nankali <i>et al.</i> , 2020
5	Quercetin	Deposisi antarmuka	Poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) – polyethylene glycol (PEG) (PLGA – PEG)	1) Mereaksikan PLGA-COOH dengan bis-amina PEG \rightarrow PLGA-NH-PEG-NH2 2) PLGA-NH-PEG-NH2 + FA \rightarrow polimer PLGA-NH-PEG-NH-FA	Ukuran: $155,0 \pm 1,2$ nm PDI: $0,19 \pm 0,01$ % EE: 97,8 % Zeta Potensial: $-40,0 \pm 0,9$	El-Gogary <i>et al.</i> , 2014

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa metode yang banyak digunakan untuk pembuatan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik yaitu metode deposisi antarmuka dan metode sonokimia. Metode deposisi antarmuka digunakan pada pembuatan nanokapsul doxorubicin, tamoxifen, dan quercetin. Metode deposisi antarmuka merupakan metode untuk pembuatan nanokapsul yang membutuhkan fase organik dan fase air yang mengandung surfaktan agar dapat meningkatkan stabilitas nanokapsulnya [7]. Pada prinsipnya, metode ini dilakukan dengan cara penambahan fase organik ke dalam fase air yang mengandung suatu surfaktan, kemudian campurannya disonikasi untuk memungkinkan terjadinya difusi pelarut dan pembentukan nanokapsul. Selanjutnya pelarut organik dihilangkan dengan cara penguapan, sehingga pada akhirnya terbentuk nanokapsul dari bentuk suspensi koloid [8,18]. Metode deposisi antarmuka banyak digunakan karena metodenya mudah digunakan untuk proses enkapsulasi, persiapannya sederhana, murah, ramah lingkungan, dan tidak memerlukan langkah yang rumit [18].

Metode lain yang banyak digunakan yaitu metode sonokimia. Metode sonokimia digunakan pada pembuatan nanokapsul kumarin 6 (C6). Metode sonokimia merupakan metode pembuatan nanokapsul dengan sifat penghantaran obat yang ditargetkan. Metode ini dilakukan melalui serangkaian reaksi kimia yang dipicu oleh suhu dan tekanan tinggi yang dihasilkan oleh radiasi ultrasonik berfrekuensi tinggi. Pada prinsipnya, metode ini dilakukan dengan cara molekul penargetan asam folat diimobilisasi ke polimer nanokapsul, kemudian obat antikanker hidrofobik didispersikan ke dalam minyak, lalu diteteskan ke permukaan fase air. Setelah itu

dilakukan sonikasi dan pada akhirnya menghasilkan nanokapsul dari bentukan suspensi koloid. Metode ini banyak digunakan karena mudah, biayanya hemat, konsumsi energinya rendah, waktu reaksinya singkat dan cepat [5, 13, 24].

Selain metode pembuatan, faktor lain yang dapat mempengaruhi keberhasilan formulasi nanokapsul yaitu bahan polimer [17]. Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa bahan polimer yang dapat digunakan dalam formulasi nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik yaitu kitosan, karboksimetil selulosa, poly (methyl methacrylate) (PMMA), dan kombinasi poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) – polyethylene glycol (PEG) (PLGA – PEG). Namun dapat dilihat pada Tabel 1 bahwa polimer yang paling banyak digunakan dalam pembuatan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik yaitu kitosan dan kombinasi PLGA-PEG.

Polimer kitosan digunakan pada nanokapsul kumarin 6 (C6) dan nanokapsul doxorubicin. Kitosan merupakan polimer alami yang banyak dimanfaatkan di bidang farmasi. Kitosan bersifat anti mikroba, tidak beracun, biokompatibel, *biodegradable* dan tidak imunogenik. Kitosan banyak digunakan sebagai polimer untuk pembuatan nanokapsul terkonjugasi asam folat karena keunggulan yang dimilikinya yaitu tidak toksik, stabil selama penggunaan, memiliki luas permukaan yang tinggi, dan dapat diaplikasikan untuk berbagai jenis obat dan ekstrak tanaman. Selain itu polimer kitosan ini juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan polimer dalam sistem penghantaran obat tertarget pada terapi kanker [10].

Polimer lainnya yang banyak digunakan yaitu polimer kombinasi PLGA-PEG. Polimer ini digunakan pada nanokapsul tamoxifen dan quercetin. PLGA merupakan suatu polimer yang bersifat *biodegradable* yang terdiri dari monomer aslinya yaitu asam laktat dan asam glikolat. PLGA banyak digunakan pada pembuatan nanokapsul terkonjugasi asam folat karena PLGA ini dapat meningkatkan kelarutan obat yang dienkapsulasi, dapat meningkatkan stabilitas fisikokimia obat, dapat memiliki sifat farmakokinetik obat yang diinginkan, dapat meningkatkan kapasitas pemuatan obat, dapat digunakan untuk pelepasan obat terkontrol dan dapat mengurangi efek samping dan toksisitas dari obat yang dienkapsulasi [18].

Akan tetapi penggunaan polimer PLGA ini saja masih terdapat kekurangan, dimana kekurangan dari PLGA ini yaitu cepat mengalami opsonisasi karena bersifat hidrofobik, sehingga mengakibatkan mudah hilangnya dari dalam sirkulasi darah dan dapat memungkinkan obat menjadi tidak mampu untuk mencapai sel target. Dengan demikian keterkaitan antara permukaan PLGA dengan polimer hidrofilik seperti polietilen glikol (PEG) dapat mengatasi hal tersebut dengan cara memberikan perlindungan nanokapsul terhadap pengenalan oleh opsonin, sehingga kombinasi polimer PLGA-PEG ini lebih sering digunakan [18]. Hal ini disebabkan karena dengan penggunaan kombinasi polimer PLGA-PEG obat akan memiliki profil sirkulasi dalam darah yang lebih lama (berkepanjangan), dapat meningkatkan pelepasan obat ke dalam sel target, dan dapat meningkatkan stabilitas nanokapsul. Dimana hal demikian dapat terjadi dibantu oleh sifat dari PEG yang bersifat biokompatibel, dapat meningkatkan kapasitas enkapsulasi obat, dapat meningkatkan waktu sirkulasi obat dalam darah, dan memiliki stabilitas yang baik [7, 8, 24].

Untuk memastikan bahwa formulasi nanokapsul terkonjugasi asam folat yang dibuat ini sudah baik maka perlu dilakukan karakterisasi. Dimana karakterisasi yang dilakukan berdasarkan penelitian-penelitian pada Tabel 1 yaitu ukuran partikel, distribusi ukuran partikel atau indeks polidispersitas (PDI), zeta potensial dan % efisiensi enkapsulasi (%EE).

Dari hasil analisis tersebut diketahui bahwa secara umum semua formula nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik memenuhi persyaratan ukuran partikel, distribusi ukuran partikel atau indeks polidispersitas (PDI), zeta potensial dan % efisiensi enkapsulasi (%EE). Namun hasil yang paling baik merujuk pada Tabel 1 adalah nanokapsul quercetin terkonjugasi asam folat yang dibuat dengan metode deposisi antarmuka dengan menggunakan polimer kombinasi PLGA-PEG.

Pengaruh Formulasi Nanokapsul Terkonjugasi Asam Folat Mengandung Agen Sitotoksik Terhadap Aktivitas Sitotoksik

Pengujian aktivitas sitotoksik umumnya dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan uji

MTT (*Microtetrazolium (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5,-diphenyl-tetrazolium bromide*). Uji MTT merupakan salah satu jenis uji kolorimetri, yang menggunakan reagen dalam pengujiannya dimana reagen yang umum digunakannya yaitu garam tetrazolium. Penggunaan reagen pada pengujian ini dapat menyebabkan perubahan warna yang dapat dideteksi dengan absorbansi cahaya pada panjang gelombang tertentu [2, 11].

Tabel 2. Pengaruh Formulasi Nanokapsul Terkonjugasi Asam Folat Mengandung Agen Sitotoksik terhadap Aktivitas Sitotoksik

No	Agen Sitotoksik	Metode Uji	Parameter Uji	Aktivitas Sitotoksik		Pustaka
				Zat Aktif Murni	Nanokapsul Terkonjugasi Asam Folat	
1	Doxorubicin	MTT Assay	% Penghambatan pertumbuhan: Sel MDA-MB-231 (Sel kanker payudara)	43%	86%	Ce <i>et al.</i> , 2021
2	4-nitrokalkon (4NC)	MTT Assay	IC ₅₀ Sel Hela (Sel kanker serviks)	66,9 µg/mL	46,7 µg/mL	Carvio Arevalo <i>et al.</i> , 2019
3	Tamoxifen	MTT Assay	IC ₅₀ Sel MCF-7 (Sel kanker payudara)	32.61 µg/mL	11,99 µg/mL	Nankali <i>et al.</i> , 2020
4	Quercetin	MTT Assay	Viabilitas sel Sel Hela (Sel kanker serviks)	84,36%	56,53%	El-Gogary <i>et al.</i> , 2014

Berdasarkan seluruh hasil pada Tabel 2 diketahui bahwa pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik terbukti mampu meningkatkan aktivitas sitotoksik yang ditandai dengan peningkatan % penghambatan pertumbuhan sel kanker, penurunan konsentrasi IC₅₀, dan penurunan % viabilitas sel kanker yang dibandingkan dengan zat aktif murni dari agen-agen sitotoksik tersebut dimana hal ini disebabkan karena beberapa faktor.

Faktor pertama yaitu disebabkan karena proses nanoenkapsulasi mampu menjaga obat dari pengaruh lingkungan seperti suhu, cahaya, ataupun pH. Nanoenkapsulasi juga dapat menjaga obat dari degradasi enzimatis. Hal ini disebabkan karena adanya perlindungan dari pelapisan zat aktif dengan polimer sehingga zat aktif menjadi tidak mudah terurai dan stabilitasnya menjadi lebih baik [7, 8]. Semakin stabil zat aktif yang dienkapsulasi maka efektivitas zat aktifnya pula akan lebih terjaga sehingga aktivitasnya menjadi lebih optimal.

Faktor kedua yaitu disebabkan karena ukuran partikel nanokapsul yang secara umum berada pada rentang 100-500 nm [19]. Adanya pertumbuhan tumor akan menyebabkan drainase limfatik pembuluh darah yang jelek/bocor dan terjadi peningkatan efek permeabilitas dan retensi (EPR). Semakin meningkatnya EPR dan dengan bantuan ukuran nanokapsul yang berada pada rentang 100-500 nm maka memungkinkan untuk nanokapsul dapat terakumulasi di sel kanker. Sehingga dengan pembuluh darah yang jelek/bocor ini dapat dimanfaatkan sebagai jalan masuknya nanokapsul ke sel kanker karena EPR yang semakin ditingkatkan [8, 23, 25].

Faktor ketiga yaitu dilihat dari kelebihan nanokapsul, dimana salah satu kelebihan nanokapsul yaitu mudah untuk dikonjugasikan sifat permukaannya melalui modifikasi kimia polimer penyusunnya [23]. Hal ini sebagaimana penelitian yang dilakukan pada kali ini. Dimana polimer dari nanokapsul dikonjugasikan dengan asam folat yang memiliki ikatan yang kuat dan spesifik dengan reseptor folat yang berada pada permukaan sel kanker. Dengan konjugasi asam folat terhadap polimer yang digunakan pada sistem nanokapsul dapat menghasilkan penargetan obat yang lebih efisien dan dapat meningkatkan lokalisasi obat antikanker ke dalam sel kanker, sehingga aktivitas sitotoksik dan efek terapeutik yang

dihasilkannya semakin optimal [23, 25].

Pengaruh Konjugasi Asam Folat Pada Nanokapsul Mengandung Agen Sitotoksik Terhadap Selektivitas Sitotoksik

Untuk melihat selektivitas sitotoksik, dapat dilakukan dengan pengujian kuantitatif dengan parameter uji viabilitas sel, dan pengujian kualitatif dengan parameter uji penyerapan sel. Dalam pengujian viabilitas sel, metode uji yang digunakan yaitu uji MTT. Uji MTT merupakan salah satu jenis uji kolorimetri, yang menggunakan reagen dalam pengujiannya dimana reagen yang umum digunakan yaitu garam tetrazolium. Penggunaan reagen pada pengujian ini dapat menyebabkan perubahan warna yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer [2, 11].

Pengujian viabilitas sel merupakan suatu pengujian untuk menentukan tingkat toksisitas dari suatu senyawa yang dapat ditentukan berdasarkan jumlah sel yang hidup. Dimana semakin rendah nilai viabilitas sel, menandakan jumlah sel yang hidup setelah terpapar senyawa sitotoksik jumlah sel nya menjadi semakin rendah [20]. Sehingga di dalam pengujian selektivitas aktivitas antikanker dengan parameter uji % viabilitas sel ini menjelaskan bahwa semakin rendah % viabilitas sel maka akan semakin rendah jumlah sel yang hidup yang menandakan bahwa obat antikanker tersebut berhasil dihantarkan secara selektif terhadap sel targetnya.

Tabel 3. Pengaruh Konjugasi Asam Folat pada Nanokapsul Mengandung Agen Sitotoksik terhadap Selektivitas Sitotoksik

No	Agen Sitotoksik	Metode Uji	Parameter Uji	Selektivitas Aktivitas Antikanker		Pustaka
				Nanokapsul Tanpa Asam Folat	Nanokapsul Terkonjugasi Asam Folat	
1	Kumarin 6 (C6)	Kualitatif: Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)	Penyerapan Sel: Sel Hela (Sel kanker serviks)	Intensitas fluoresensi pada sel Hela kurang kuat	Intensitas fluoresensi muncul kuat dalam sel Hela	Cui <i>et al.</i> , 2017; Zhong <i>et al.</i> , 2017; He <i>et al.</i> , 2021
2	Doxorubicin	Kualitatif: Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)	Penyerapan Sel: Sel MDA-MB-231 (Sel kanker payudara)	Intensitas fluoresensi pada sel MDA-MB-231 kurang kuat	Intensitas fluoresensi muncul kuat dalam sel MDA-MB-231	Ce <i>et al.</i> , 2021
3	4-nitrokalkon (4NC)	Kuantitatif: MTT Assay	Viabilitas Sel: Sel Hela (Sel kanker serviks)	61%	37%	Carvio Arevalo <i>et al.</i> , 2019
		Kualitatif: Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)	Penyerapan Sel: Sel Hela (Sel kanker serviks)	Intensitas fluoresensi pada sel Hela kurang kuat	Intensitas fluoresensi muncul kuat dalam sel Hela	
4	Tamoxifen	Kualitatif: Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)	Penyerapan Sel: Sel MCF-7 (Sel kanker payudara)	Intensitas fluoresensi pada sel MCF-7 kurang kuat	Intensitas fluoresensi muncul kuat dalam sel MCF-7	Nankali <i>et al.</i> , 2020
5	Quercetin	Kuantitatif: MTT Assay	Viabilitas Sel: Sel Hela (Sel kanker serviks)	81,27%	56,63%	El-Gogary <i>et al.</i> , 2014
		Kualitatif: Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)	Penyerapan Sel: Sel Hela (Sel kanker serviks)	Intensitas fluoresensi pada sel Hela kurang kuat	Intensitas fluoresensi muncul kuat dalam sel Hela	

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat dilihat bahwa nanokapsul 4NC dan quercetin yang terkonjugasi asam folat memiliki selektivitas yang lebih tinggi terhadap sel HeLa. Hal ini disebabkan karena adanya asam folat yang dapat berikatan dengan kuat dengan reseptor folat yang berada pada permukaan sel HeLa, sehingga dengan adanya bantuan dari asam folat ini menyebabkan obat dapat dihantarkan secara selektif terhadap sel kanker [3, 8]. Dimana hal tersebut dapat dilihat dari % viabilitas sel yang diperoleh pada sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat lebih rendah dari % viabilitas sel pada nanokapsul tanpa asam folat.

Penurunan % viabilitas sel pada sel HeLa ini menunjukkan bahwa sel HeLa yang dapat hidup setelah terpapar oleh nanokapsul 4NC dan nanokapsul quercetin terkonjugasi asam folat lebih rendah atau sedikit dibandingkan dengan sel HeLa yang dapat hidup setelah terpapar oleh nanokapsul 4NC dan nanokapsul quercetin tanpa asam folat. Hal ini menunjukkan bahwa dengan nanokapsul terkonjugasi asam folat telah berhasil menghantarkan obat antikanker secara selektif terhadap sel kankernya.

Selain berdasarkan % viabilitas sel, dapat dilihat pula bahwa penelitian-penelitian sebelumnya melakukan uji penyerapan sel dengan menggunakan alat *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM). CLSM merupakan suatu alat yang digunakan dengan tujuan untuk mengamati sampel dengan memanfaatkan laser sebagai sumber pengamatannya. CLSM ini digunakan untuk mengamati sampel berdasarkan adanya perpendaran warna atau fluorescence, sehingga hasil yang dihasilkan dari CLSM ini berupa suatu intensitas fluoresensi. Tujuan dari pengujian penyerapan sel dengan menggunakan alat CLSM ini untuk mengamati dan untuk menilai kemampuan sistem penargetan dari sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat yang dimediasi oleh suatu reseptor yaitu reseptor folat.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa pada penelitian-penelitian tersebut semuanya melakukan uji penyerapan sel dengan menggunakan alat *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM) yang pengujiannya dilakukan terhadap nanokapsul mengandung agen sitotoksik terkonjugasi asam folat yang dibandingkan dengan nanokapsul mengandung agen sitotoksik tanpa konjugasi asam folat. Hasil yang diperoleh semuanya menyatakan bahwa pada nanokapsul mengandung agen sitotoksik tanpa asam folat intensitas fluoresensinya kurang kuat jika dibandingkan dengan nanokapsul terkonjugasi asam folat yang hasil intensitas fluoresensinya muncul kuat pada sel-sel kanker seperti pada sel HeLa (sel kanker serviks), sel MDA-MB-231 (sel kanker payudara), dan sel MCF-7 (sel kanker payudara).

Hasil dari nanokapsul mengandung agen sitotoksik terkonjugasi asam folat yang intensitas fluoresensinya muncul kuat pada sel-sel kanker ini menyatakan bahwa tingginya akumulasi nanopartikel obat antikanker di dalam sel-sel kanker, dan menyatakan bahwa banyaknya senyawa antikanker yang berhasil diinternalisasi ke dalam sel-sel kanker tersebut melalui proses endositosis [7, 8]. Hal ini disebabkan karena pada sel-sel kanker akan mengekspresikan reseptor folat secara berlebih. Ketika suatu nanokapsul mengandung agen sitotoksik telah terkonjugasi asam folat, maka asam folat yang dikonjugasikan terhadap polimer tersebut dapat mengenali dan mengikat reseptor folat, dimana biasanya reseptor folat ini berada di permukaan sel kanker, sehingga setelah ikatan asam folat dan reseptor folat terbentuk maka obat antikanker tersebut akan diinternalisasi ke dalam sel-sel kanker ini melalui proses endositosis.

Ketika senyawa antikanker yang diinternalisasi ke dalam sel-sel kanker tersebut lebih banyak atau lebih tinggi, maka ketika diuji penyerapan selnya dengan menggunakan CLSM akan memberikan intensitas fluoresensi yang muncul sangat kuat pada sel-sel kanker tersebut. Sehingga ini menandakan bahwa obat antikanker dapat secara selektif dihantarkan ke dalam sel kanker yang ditandai dengan munculnya intensitas fluoresensi yang semakin kuat pada sel kanker tersebut.

Sedangkan pada nanokapsul mengandung agen sitotoksik tanpa asam folat intensitas fluoresensinya kurang kuat jika dibandingkan dengan nanokapsul terkonjugasi asam folat. Ini menandakan bahwa sedikitnya atau rendahnya obat antikanker yang dihantarkan pada sel-sel kanker tersebut. Hal ini disebabkan karena tidak adanya bantuan dari agen penarget yaitu asam folat yang dikonjugasikan terhadap polimer nanokapsulnya. Walaupun terdapat lebih banyak reseptor folat pada permukaan sel kanker akan tetapi pada sistem nanokapsul nya tidak dikonjugasikan dengan suatu agen penarget seperti asam folat maka menyebabkan penghantaran obat antikanker ke dalam sel-sel kankernya menjadi tidak selektif, sehingga

ketika dilakukan uji penyerapan sel dengan menggunakan CLSM akan memberikan intensitas fluoresensi yang lemah (kurang kuat).

Dengan demikian konjugasi asam folat pada nanokapsul mengandung agen sitotoksik terbukti dapat meningkatkan selektivitas agen sitotoksik atau obat antikanker terhadap sel kanker yang ditandai dengan penurunan % viabilitas sel dan peningkatan intensitas fluoresensi yang dibandingkan terhadap nanokapsul mengandung agen sitotoksik tanpa konjugasi asam folat. Selektivitas yang lebih tinggi terhadap sel kanker yang dihasilkan dari nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik menunjukkan bahwa pengobatan kanker dengan pengembangan sistem penghantaran obat tertarget terbukti dapat meningkatkan efek terapeutik obat antikanker pada sel kanker, dan dapat menurunkan efek samping obat antikanker pada sel normal, sehingga dengan pengembangan sistem penghantaran obat tertarget dapat meningkatkan keamanan pada penggunaan agen sitotoksik atau obat antikanker di dalam terapi kanker.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil studi literatur menunjukkan bahwa sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat sudah dikembangkan untuk agen sitotoksik seperti kumarin-6 (C6), 4-nitrokalkon (4NC), doxorubicin, tamoxifen dan quercetin. Metode yang paling banyak digunakan untuk pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik adalah metode deposisi antarmuka. Sedangkan polimer yang paling banyak digunakan adalah kitosan dan kombinasi PLGA-PEG. Pengembangan sediaan nanokapsul terkonjugasi asam folat mengandung agen sitotoksik mampu meningkatkan aktivitas sitotoksik ditandai dengan % penghambatan pertumbuhan sel/IC₅₀% viabilitas sel dibandingkan dengan zat aktif murni. Dan konjugasi asam folat terhadap sediaan nanokapsul mengandung agen sitotoksik mampu meningkatkan selektivitas sitotoksik terhadap sel kanker ditandai dengan % viabilitas sel dan intensitas fluoresensi yang dibandingkan dengan sediaan nanokapsul tanpa konjugasi asam folat.

Acknowledge

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Ibu apt. Sani Ega Priani, M. Si. selaku pembimbing utama dan Ibu dr. apt. Dina Mulyanti, M. Si. selaku pembimbing serta yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi kepada penulis. Serta penulis mengucapkan terimakasih kepada kedua orang tua, keluarga dan teman-teman yang selalu memberikan motivasi, dukungan, dan doa selama proses penelitian dan penulisan artikel ilmiah ini.

Daftar Pustaka

- [1] Abdassah, M. (2017). Nanopartikel dengan gelasi ionik. *Farmaka*, 15(1), 45–52.
- [2] Aslantürk, Ö. S. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. In *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World*. InTech.
- [3] Carpio Arévalo, J. M., Feuser, P. E., Rossi, G. R., Trindade, E. S., da Silva Córneo, E., Machado-de-Ávila, R. A., Sayer, C., Cadena, S. M. S. C., Noletto, G. R., Martinez, G. R., Hermes de Araújo, P. H., & Merlin Rocha, M. E. (2019). Preparation and characterization of 4-nitrochalcone-folic acid-poly(methyl methacrylate) nanocapsules and cytotoxic activity on HeLa and NIH3T3 cells. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 54. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101300>
- [4] Cé, R., Couto, G. K., Pacheco, B. Z., Dallemole, D. R., Paschoal, J. D., Pacheco, B. S., Guterres, S. S., Seixas, F., Collares, T., & Pohlmann, A. R. (2021). Folic acid-doxorubicin polymeric nanocapsules: A promising formulation for the treatment of triple-negative breast cancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 165.
- [5] Cui, X., Dong, L., Zhong, S., Shi, C., Sun, Y., & Chen, P. (2017). Sonochemical fabrication of folic acid functionalized multistimuli-responsive magnetic graphene oxide-based nanocapsules for targeted drug delivery. *Chemical Engineering Journal*.
- [6] Deng, S., Gigliobianco, M. R., Censi, R., & di Martino, P. (2020). Polymeric

- nanocapsules as nanotechnological alternative for drug delivery system: Current status, challenges and opportunities. In *Nanomaterials* (Vol. 10, Issue 5). MDPI AG.
- [7] El-Gogary, R. I., Rubio, N., Wang, J. T. W., Al-Jamal, W. T., Bourgoignon, M., Kafa, H., Naeem, M., Klippstein, R., Abbate, V., Leroux, F., & Bals, S. (2014). Polyethylene glycol conjugated polymeric nanocapsules for targeted delivery of quercetin to folate-expressing cancer cells in vitro and in vivo. *ACS Nano*, 8(2), 1384–1401.
- [8] Fadila, E. (2021). EFEKTIFITAS PELAYANAN HOME CARE PADA PERAWATAN PALIATIF PENDERITA PENYAKIT KRONIS: KANKER. *NURSING UPDATE: Jurnal Ilmiah Ilmu Keperawatan P-ISSN: 2085-5931*.
- [9] Fajriyah, S. N., Lestari, Y. E., Suaka, N. I., & Darmawan, E. (2021). Narrative Review: Nano Kapsul Ekstrak Biji papaya (*Carica Papaya L.*) sebagai Antifertilitas. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 6(2), 10–24.
- [10] Fanani, Z. (2017). SANGKETAN (*ACHYRANTHES ASPERA*) AGEN SITOTOKSIK POTENSIAL DI MASA DEPAN. In *Zaenal Fanani/ Indonesia Jurnal Farmasi* (Vol. 2, Issue 1).
- [11] Hapsari, T. D., & Puspitasari, I. M. (2018). POTENSI KITOSAN DALAM SISTEM PENGHANTARAN OBAT TERTARGET PADA ORGAN PARU HATI GINJAL DAN KOLON. *Farmaka*, 16(2), 54–63.
- [12] He, S., Zhong, S., Meng, Q., Fang, Y., Dou, Y., Gao, Y., & Cui, X. (2021). Sonochemical preparation of folate-decorated reductive-responsive carboxymethylcellulose-based nanocapsules for targeted drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 266. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118174>
- [13] Iswanto, G., Rachmawaty R., & Ake, J. (2020). Pengaruh Hipnosis terhadap Penurunan Kecemasan pada Pasien Kanker. *Jurnal Kesehatan Manarang*, 6(2), 119–123.
- [14] Marzuki, I. (2012). *Pelepasan Terkendali Kalium Klorida dalam Mikrosfer Kitosan dengan Metode Tautan Silang*. [Skripsi]. Universitas Indonesia, Jakarta.
- [15] Nankali, E., Shaabanzadeh, M., & Torbati, M. B. (2020). Fluorescent tamoxifen-encapsulated nanocapsules functionalized with folic acid for enhanced drug delivery toward breast cancer cell line MCF-7 and cancer cell imaging. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393(7), 1211–1219.
- [16] Pathak, C., Vaidya, F. U., & Pandey, S. M. (2018). Mechanism for Development of Nanobased Drug Delivery System. In *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems: Nanoscience and Nanotechnology in Drug Delivery*
- [17] Putri, M. D. R., Dahlizar, S., & Noviyanto, A. (2021). Sintesis, Karakteristik, Penetrasi Kulit, dan Toksisitas Nanogold: A Systematic Review. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 2(2).
- [18] Steichen, S. D., Caldorera-Moore, M., & Peppas, N. A. (2013). A review of current nanoparticle and targeting moieties for the delivery of cancer therapeutics. In *European Journal of Pharmaceutical Sciences* (Vol. 48, Issue 3, pp. 416–427). Elsevier B.V.
- [19] Sun, Y., Shi, C., Yang, J., Zhong, S., Li, Z., Xu, L., & Zhao, S (2018). Fabrication of folic acid decorated reductive-responsive starch-based microcapsules for targeted drug delivery via sonochemical method. *Carbohydrate Polymers*, 200, 508–515.
- [20] Winarti, L. (2015). Sistem penghantaran obat tertarget, macam, jenis-jenis sistem penghantaran, dan aplikasinya. *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 10(2), 75–81.
- [21] Zhong, S., Zhang, H., Liu, Y., Wang, G., Shi, C., Li, Z., Feng, Y., & Cui, X. (2017). Folic acid functionalized reduction-responsive magnetic chitosan nanocapsules for targeted delivery and triggered release of drugs. *Carbohydrate Polymers*, 168, 282–289.
- Zwicke, G. L., Ali Mansoori, G., & Jeffery, C. J. (2012). Utilizing the folate receptor for active targeting of cancer nanotherapeutics. *Nano Reviews*, 3(1), 18496.