

## INTISARI

*Human Serum Albumin* (HSA) berperan dalam mengatur tekanan onkotik dan pH darah, serta mampu mengikat dan mengangkut berbagai molekul bioaktif baik molekul endogen maupun eksogen. Aktivitas HSA bergantung pada stabilitas konformasi yang dapat dipengaruhi oleh kekuatan ionik pelarut. Namun, pengaruh kekuatan ionik suatu pelarut sering kali diabaikan dalam penelitian. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh kekuatan ionik terhadap stabilitas konformasi dan aktivitas pengikatan HSA.

HSA dilarutkan dalam *Phosphate Buffered Saline* (PBS) 50 mM pH 7,4 dan kekuatan ionik ( $I$ ) 0,1-0,6 yang diatur menggunakan NaCl. Pengujian stabilitas konformasi protein menggunakan spektrofotometri UV untuk mengevaluasi *Aggregation Index* (AI), *turbidity*, dan pergeseran panjang gelombang maksimal, serta spektrofotometri fluoresensi untuk mengevaluasi perubahan intensitas fluoresensi pada panjang gelombang maksimal dan pergeseran panjang gelombang maksimal. Uji aktivitas dievaluasi berdasarkan jumlah natrium diklofenak yang terikat pada setiap molekul HSA. Data dianalisis dengan uji statistik *one-way* dan *two-way* ANOVA pada tingkat kepercayaan 95% dengan *software* GraphPad Prism 10 (versi *trial*).

HSA pada  $I = 0,25$  merupakan yang paling stabil konformasinya. Sedangkan pada uji aktivitas, HSA pada  $I = 0,1$  memiliki konsentrasi Na-Diklofenak terikat tertinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa  $I$  0,1 dan 0,25 masih berada pada kisaran kekuatan ionik yang dapat menjaga stabilitas konformasi dan aktivitas pengikatan.

**Kata kunci:** HSA, kekuatan ionik, stabilitas konformasi, uji pengikatan, natrium diklofenak

## ABSTRACT

*Human Serum Albumin (HSA) plays a vital role in maintaining oncotic pressure and blood pH, in addition to its capacity to bind and transport a wide range of bioactive molecules, both endogenous and exogenous. The functional activity of HSA is strongly dependent on its conformational stability, which may be influenced by the ionic strength of the surrounding solvent. Nevertheless, the impact of solvent ionic strength is frequently overlooked in related studies. The present research aims to investigate the influence of ionic strength on the conformational stability and ligand-binding activity of HSA.*

*In this study, HSA was dissolved in 50 mM phosphate-buffered saline (PBS) at pH 7.4 with varying ionic strengths ( $I = 0.1-0.6$ ), adjusted using sodium chloride (NaCl). Conformational stability was evaluated using UV spectrophotometry to determine the Aggregation Index (AI), turbidity, and shifts in maximum absorbance wavelength, as well as fluorescence spectrophotometry to analyze changes in fluorescence intensity and emission wavelength shifts. Binding activity was assessed by quantifying the amount of sodium diclofenac bound per HSA molecule. Data were statistically analyzed using one-way and two-way ANOVA at a 95% confidence level with GraphPad Prism 10 (trial version).*

*Human Serum Albumin (HSA) demonstrated the greatest conformational stability at an ionic strength ( $I$ ) of 0.25, while the highest binding activity toward sodium diclofenac was observed at  $I = 0.1$ . These results suggest that both  $I = 0.1$  and  $I = 0.25$  lie within an optimal ionic strength range that preserves the conformational integrity and ligand-binding capability of HSA.*

**Keywords:** *HSA, ionic strength, conformational stability, binding assay, diclofenac sodium*