



Review Artikel

Aplikasi *Molecularly Imprinted Polymer* untuk Bioanalisis Senyawa Obat

Untung Gunawan^{1*}, Dion Notario¹, Shakira Aprillia Tanudjaja¹, Patrick Renata¹, Feronia Reni Cyrena Santoso²,
Atthar Luqman Ivansyah³

*Penulis korespondensi: untung.gunawan@atmajaya.ac.id

¹Department of Pharmacy, School of Medicine and Health Sciences, Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, 14440, Indonesia

²Department of Pharmacy, Faculty of Health Science, Pelita Harapan University, Tangerang, 15811, Indonesia

³Instrumentation and Computational Physics Research Group, Department of Physics, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Institut Teknologi Bandung, 40132, Indonesia

Abstrak

Penentuan kadar obat dalam sampel biologis, seperti darah, plasma, serum, urin, jaringan, dan feses merupakan masalah yang menjadi perhatian. Peningkatan minat penelitian pada senyawa, baik obat eksisting beserta metabolitnya, maupun kandidat obat baru menunjukkan bahwa perlu adanya pendekatan pengembangan baru terhadap metode analisisnya. Preparasi sampel merupakan tahapan penting untuk menghilangkan pengaruh matriks dan serta meningkatkan kinerja analisis suatu metode. *Molecularly imprinted polymer* (MIP) sebagai metode pemisahan dengan fitur unik yang bersifat selektif terhadap molekul target telah diaplikasikan berbagai macam aplikasi dan manfaat khususnya ketika digunakan sebagai adsorben dalam metode preparasi untuk analisis sampel biologis dan matriks yang kompleks. Tujuan penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran terkait penggunaan MIP dalam bioanalisis senyawa obat. Metode yang digunakan pada penelitian ini menggunakan review artikel terkait konsep bioanalisis dan penerapan MIP untuk analisis komponen obat dalam matriks biologis. Berdasarkan hasil penelitian, terdapat peningkatan jumlah studi tentang pengembangan MIP selama dekade terakhir. Investigasi menunjukkan hasil yang memuaskan dalam metode bioanalisis berbasis MIP. Hasil studi menunjukkan keunggulan MIP sebagai metode preparasi yang memiliki akurasi, reproduktifitas, sensitivitas, kecepatan, dan efektivitas biaya yang tinggi yang membuatnya cocok untuk penggunaan klinis. Penelitian ini dapat menjadi pengantar untuk membuka peluang penelitian lebih lanjut tentang pengembangan MIP untuk bioanalisis senyawa obat.

Kata kunci: *Bioanalisis; Matriks biologis; Preparasi sampel; Molecularly imprinted polymer.*

Application of Molecularly Imprinted Polymers for Bioanalysis of Drug Molecules

Abstract

Determination of drug concentration in biological specimens, including blood, plasma, serum, urine, tissue, and feces is a critical aspect of bioanalysis. The increasing interest in research on drug molecules, both existing drugs and their metabolites, and new drug candidates shows that a new development approach is needed for their bioanalytical methods. Sample preparation is an important step to eliminate the influence of the matrix and improve the analytical performance of a method. Molecularly imprinted polymer (MIP) as a separation method with unique features that are selective to target molecules has been applied to various applications and benefits, especially when used as an adsorbent in preparation methods for the analysis of complex biological matrices. The purpose of this study was to provide an overview of the use of MIP in the bioanalysis of drug compounds. The method used in this study uses a review of articles related to the concept of bioanalysis and the application of MIP for the analysis of drug components in biological matrices. Based on the results of the study, there has been an increase in the number of studies on the development of MIP over the last decade. Investigations show satisfactory results in MIP-based bioanalysis methods. The results of the study show the superiority of MIP as a preparation method that has high accuracy, reproducibility, sensitivity, speed, and cost-effectiveness, which makes it suitable

for clinical use. This study can be a preliminary for further research on the development of MIP for bioanalysis of drug molecules.

Keywords: *Bioanalysis; Biological matrices; Sample preparation; Molecularly imprinted polymer.*

PENDAHULUAN

Bioanalisis merupakan bagian penting dalam penemuan dan pengembangan obat. Bioanalisis berkaitan dengan obat, metabolit, dan senyawa lainnya dalam sampel biologis dan melibatkan beberapa langkah mulai dari pengumpulan sampel hingga analisis sampel dan pelaporan data. Bioanalisis sangat berpengaruh pada proses pengembangan obat, analisis forensik, pengendalian doping, dan identifikasi biomarker untuk metode diagnostik berbagai penyakit. Bioanalisis juga memberikan informasi mengenai toksikokinetik, farmakokinetik, dan farmakodinamik senyawa obat. Proses preparasi sampel merupakan tahap yang paling penting dalam bioanalisis, di mana pada persiapan sampel dilakukan proses untuk menghilangkan pengaruh matriks sampel, serta untuk meningkatkan kinerja analisis suatu metode bioanalisis (Wisnuwardhani et al., 2022). Seiring dengan tantangan tersebut, diperlukan metode preparasi sampel yang mampu mengatasi kompleksitas matriks biologis

Metode preparasi sampel yang digunakan untuk bioanalisis harus memastikan proses pemisahan dan pengayaan analit yang efektif dari berbagai matriks yang ada, di mana seringkali komponen analit dalam sampel sangat sedikit. Selain itu, selektivitas ekstraksi analit target yang tinggi, dalam kaitannya dengan zat pengganggu lain yang hadir

bersama dalam sampel merupakan tantangan yang penting dalam metode bioanalisis. Oleh karena itu, selama beberapa dekade terakhir, telah dilakukan pengembangan untuk menemukan potensi dari berbagai jenis sorben untuk proses preparasi sampel dalam bioanalisis. Salah satu metode yang menjadi perhatian adalah penggunaan adsorben spesifik berdasarkan teknik pengenalan molekuler yang dikenal dengan *molecularly imprinted polymer* (MIP).

Dibandingkan sorben konvensional, MIP memiliki selektivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dalam mengikat molekul target tertentu, serta kestabilan yang lebih baik dalam kondisi lingkungan yang beragam. MIP juga dapat digunakan kembali berulang kali tanpa kehilangan efisiensi, lebih ramah lingkungan, dan dapat disesuaikan untuk berbagai aplikasi, termasuk deteksi analit dalam sampel kompleks. Keunggulan-keunggulan ini menjadikan MIP solusi yang lebih efisien, ekonomis, dan fleksibel untuk berbagai kebutuhan terutama di bidang bioanalisis (Poliwoda & Wieczorek, 2022). Penggunaan MIP sebagai sorben selektif dalam preparasi sampel adalah pada tahun 1994 untuk analisis pentamidin dalam sampel urin dengan ekstraksi fase padat (SPE). Kemampuan pengenalan molekuler dari MIP menawarkan selektivitas tinggi untuk metode preparasi sampel. *Review article* ini bertujuan untuk menjelaskan perkembangan terkini tentang bioanalisis

senyawa obat, matriks biologis, dan metode preparasinya terutama penggunaan MIP dalam bioanalisis. Pada *review article* ini juga akan membahas penggunaan MIP pada beberapa senyawa dalam bioanalisis termasuk anti inflamasi, beta bloker, biomarker, narkotika, antibiotika, dan anti jamur sehingga dapat membuka peluang untuk penelitian lebih lanjut tentang metode bioanalisis dalam berbagai bidang ilmu.

METODE

Dalam mempelajari terkait aplikasi MIP untuk bioanalisis senyawa obat, penelitian ini menggunakan pendekatan kualitatif di mana dilakukan studi literatur untuk memperoleh data primernya. Data yang digunakan pada penelitian ini mencakup berbagai jenis publikasi antara lain artikel ilmiah, buku, dan data lainnya yang membahas mengenai penggunaan MIP dalam bioanalisis. Pustaka dan database akademik terkemuka seperti Scopus, Pubmed, Web of Science, Google Scholar, dan lainnya yang menyediakan sumber data akademik digunakan untuk penelitian ini. Untuk memastikan relevansi dengan penggunaan dan pengembangan saat ini, pustaka yang digunakan difokuskan pada publikasi yang diterbitkan dalam lima hingga sepuluh tahun terakhir.

Pencarian data dilakukan menggunakan berbagai kata kunci untuk memperoleh artikel yang relevan seperti *bioanalysis*, *biological matrices*, *MIP bioanalysis*, dan *MIP biological fluid* untuk memperoleh data terkait publikasi yang relevan. Setelah memperoleh data dilakukan proses pemilihan publikasi yang relevan serta proses penyortiran data untuk memperoleh informasi yang sesuai mengenai bagaimana proses MIP untuk bioanalisis. Analisis deskriptif digunakan

untuk memberikan gambaran literatur dan sintesis data untuk memberikan gambaran menyeluruh tentang topik yang diteliti.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini akan dibahas lebih mendetail mengenai konsep bioanalisis, meliputi metode analisis, validasi metode bioanalisis, matriks biologis, metode preparasi sampel, konsep dasar MIP, dan penerapan MIP untuk analisis komponen obat dalam matriks biologis.

1. Metode analisis

Metode analisis merupakan teknik yang digunakan untuk melakukan pengujian dan evaluasi secara kuantitatif dan kualitatif terhadap obat atau biomarker dalam bioanalisis. Terdapat berbagai metode pilihan dalam pengujian bioanalisis yang dapat dipilih, di mana masing-masingnya memiliki kelebihan dan keterbatasannya sendiri. Pemilihan metode kuantifikasi dalam bioanalisis dapat didasarkan pada ukuran molekul, jenis, dan matriks sampel. Para peneliti dapat menentukan metode mana yang paling baik di mana metode yang ada harus divalidasi untuk memperoleh hasil pengujian yang sama di setiap tahap supaya memastikan data berkualitas tinggi dan konsisten dalam setiap pengujian. Saat ini metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) telah muncul sebagai metode yang paling umum digunakan untuk analisis senyawa obat dalam sampel biologis (Gunawan et al., 2023).

Bioassay adalah teknik dasar yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas biologis atau potensi suatu senyawa obat. Bioassay memainkan peran penting dalam pengembangan dan pengujian obat, terutama untuk mengidentifikasi dan

mengukur efikasi serta keamanan suatu obat. Meskipun bioassay memberikan data yang relevan secara biologis, hasilnya dapat dipengaruhi oleh variabilitas individu dan memerlukan kontrol yang cermat terhadap kondisi pengujian.

Spektrofotometri adalah teknik yang banyak digunakan dalam bioanalisis untuk mengkuantifikasi senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Teknik ini sangat berguna untuk mengukur konsentrasi biomolekul seperti protein, asam nukleat, dan metabolit. Kesederhanaan, kecepatan, dan biaya rendah dari spektrofotometri menjadikannya metode yang berharga, meskipun teknik ini memiliki keterbatasan dalam hal spesifisitas dan sensitivitas, terutama dalam sampel biologis kompleks (Rudrapal et al., 2022).

Kromatografi gas (GC) digunakan untuk memisahkan dan menganalisis senyawa volatil dalam sampel biologis. GC sangat efektif untuk mempelajari senyawa seperti metabolit, obat, dan polutan lingkungan yang dapat diuapkan tanpa terdegradasi. Dalam bioanalisis, GC digunakan untuk mengkuantifikasi senyawa organik volatil atau metabolit obat dalam cairan biologis seperti darah atau urin. Metode ini menawarkan sensitivitas dan presisi yang tinggi untuk senyawa volatil, namun tidak cocok untuk senyawa non-volatil, yang membatasi penerapannya dalam konteks bioanalisis tertentu (Kul & and Sagirli, 2023).

Kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) adalah teknik yang kuat dan serbaguna yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengkuantifikasi senyawa non-volatil dalam matriks biologis yang kompleks. Dalam bioanalisis, HPLC banyak

digunakan untuk menganalisis obat, metabolit, protein, peptida, dan biomolekul lainnya dalam sampel biologis seperti plasma, serum, atau urin. Teknik ini menawarkan resolusi dan sensitivitas yang sangat baik, menjadikannya ideal untuk studi farmakokinetik dan deteksi biomarker. Meskipun HPLC memerlukan persiapan sampel yang lebih banyak dan lebih lambat dibandingkan beberapa teknik lain, teknik ini sangat efektif untuk memberikan informasi rinci tentang matriks yang kompleks.

Ultra performance liquid chromatography (UPLC) adalah bentuk lanjutan dari HPLC yang beroperasi pada tekanan yang lebih tinggi dan menawarkan waktu analisis yang lebih cepat, resolusi yang lebih baik, dan sensitivitas yang lebih tinggi. UPLC sangat menguntungkan dalam bioanalisis, di mana kecepatan dan presisi sangat penting. Peningkatan efisiensi dan sensitivitas UPLC menjadikannya alat yang sangat efektif untuk menganalisis senyawa dalam matriks biologis yang kompleks, memungkinkan peneliti untuk mendeteksi bahkan jumlah analit yang sangat kecil (Vanitha Madhuri T et al., 2024).

Setiap metode ini memainkan peran penting dalam bioanalisis, masing-masing menawarkan keunggulan yang berbeda tergantung pada sifat sampel dan analit yang sedang dipelajari. Pemilihan metode tergantung pada faktor-faktor seperti sensitivitas, kecepatan, resolusi, dan jenis senyawa yang dianalisis, memungkinkan peneliti untuk memilih teknik yang paling sesuai untuk analisis mereka. Perbandingan metode yang dapat digunakan dalam bioanalisis, serta kelebihan dan kekurangan metode tersebut ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan metode bioanalisis

Metode	Keunggulan	Kekurangan
Bioassay	Mudah dilakukan, tidak memerlukan instrumen yang mahal.	Tidak dapat mengukur konsentrasi dari senyawa dan metabolitnya masing-masing. Beberapa senyawa tidak larut dalam air dan difusinya terbatas.
Spektrofotometri	Metode relatif sederhana. Memerlukan waktu lebih singkat dan selektivitas yang lebih baik dibandingkan metode <i>bioassay</i> .	Prosedur derivatisasi terkadang diperlukan sebelum proses deteksi. Senyawa endogen dapat mengganggu hasil analisis. Tidak dapat digunakan untuk analisis simultan.
Kromatografi gas	Waktu analisis yang singkat. Dapat digunakan untuk analisis simultan.	Detektor biasanya bersifat destruktif. Perlu prosedur derivatisasi untuk meningkatkan volatilitas senyawa.
KCKT	Dapat digunakan untuk analisis simultan. Detektor yang digunakan tidak bersifat destruktif sehingga analit dapat ditampung untuk analisis lebih lanjut.	Diperlukan persiapan sampel yang sesuai untuk memperoleh hasil yang baik, rentan terhadap efek matriks. Biasanya diperlukan waktu analisis yang panjang untuk memperoleh metode yang optimal.
UPLC	Peningkatan efisiensi kromatografi dibandingkan dengan metode KCKT. Waktu analisis lebih singkat.	Penggunaan partikel yang lebih kecil di kolom memerlukan pemrosesan sampel yang sesuai untuk mencegah penyumbatan. Biaya instrumen yang relatif tinggi.

2. Validasi metode bioanalisis

Validasi metode bioanalisis merupakan hal yang diperlukan dalam pengembangan metode analisis obat dalam matriks biologis. Validasi metode bioanalisis yang dilakukan harus mengikuti panduan validasi Terdapat dua pedoman utama untuk validasi metode bioanalitis: Panduan Validasi Metode Bioanalitis untuk Industri (FDA) dan pedoman ICH M10 tentang validasi metode bioanalisis. Berdasarkan panduan validasi tersebut, terdapat beberapa parameter untuk validasi seperti selektivitas, linearitas, akurasi, presisi, dan stabilitas. (Moein et al., 2017).

Selektivitas adalah parameter metode analisis yang berguna untuk membedakan dan mengukur analit dari komponen pengganggu dan matriks lain yang berada dalam sampel biologis kosong. Kriteria selektivitas yang diterima dilihat dari tidak adanya respon yang signifikan dari komponen pengganggu, respon dari komponen pengganggu memiliki nilai *limit lower of quantification* (LLOQ) <20% dari respon analit dan pada larutan standar memiliki nilai LLOQ <5%.

Linearitas adalah parameter yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi analit dengan respon yang dihasilkan oleh kromatografi. Linearitas dibuat dengan cara menganalisis sampel kosong yang diberikan internal standar dengan 6 titik konsentrasi yang mencakup titik konsentrasi terendah (LLOQ) dan konsentrasi tertinggi (*upper limit of quantification*, ULOQ). Pembuatan kurva kalibrasi perlu dilakukan minimal 3 kali proses sendiri dalam hari yang berbeda. Nilai akurasi dari konsentrasi yang dihitung kembali harus kurang lebih 20% dari nilai konsentrasi LLOQ (Kaza et al., 2019).

Akurasi merupakan parameter yang menunjukkan hasil dengan nilai terdekat dari nilai nominal. Sedangkan presisi merupakan parameter yang menunjukkan hasil yang sama atau mendekati dalam beberapa replikasi. Parameter akurasi dan presisi dilakukan dengan sampel QC dengan 4 level yang berbeda yaitu LLOQ, *qualitit control* (QC) rendah, QC sedang, dan QC tinggi dengan paling tidak 5 kali replikasi per level QC. Nilai akurasi dari setiap konsentrasi harus berada dalam $\pm 15\%$ dari konsentrasi minimal kecuali pada LLOQ harus berada dalam $\pm 20\%$. Nilai presisi (%CV) tidak boleh lebih dari 15% kecuali pada konsentrasi LLOQ nilai tidak lebih dari 20%.

Stabilitas merupakan parameter yang harus dilakukan dalam setiap proses validasi. Tujuan dilakukan stabilitas untuk memastikan proses preparasi, analisis, dan kondisi penyimpanan sampel tidak berpengaruh terhadap konsentrasi analit. Parameter stabilitas dilakukan pada QC dengan konsentrasi rendah dan tinggi sebanyak tiga replikasi. Nilai konsentrasi dari setiap level konsentrasi QC harus berada dalam $\pm 15\%$ dari konsentrasi minimal (Kadian et al., 2016).

3. Matriks biologis

Dalam pengujian bioanalisis, berbagai jenis matriks biologis seperti darah total, plasma, serum, urin, rambut, air susu ibu, air liur, keringat, cairan serebrospinal, dan jaringan dapat digunakan sebagai sampel. Secara umum, biofluida (darah, serum, plasma, air liur, keringat, dan urin) merupakan matriks yang paling banyak digunakan dalam bioanalisis (Ingle et al., 2022). Setiap matriks memiliki karakteristik yang unik dengan kelebihan dan keterbatasannya masing-masing dalam

bioanalisis. Interpretasi klinis dari data sangat bergantung pada matriks tersebut.

3.1. Darah

Darah terdiri dari sekitar 55% plasma, di mana 92% dari plasma ini berupa air, 7% berupa protein seperti albumin, globulin, dan faktor anti-hemofilik, sementara 1% nya berupa garam mineral, gula, lemak, hormon, dan vitamin (Lockard Conley & Schwartz Robert, 2024). Plasma dan serum biasanya digunakan untuk mengevaluasi berbagai parameter dalam studi terkait suatu penyakit. Adanya pengikatan terhadap protein plasma dengan obat, dapat mempengaruhi distribusi obat ke situs target serta efikasinya. Sampel darah memiliki kelebihan, seperti memberikan informasi sistemik yang representatif, kemudahan pengambilan, dan cocok untuk berbagai metode analisis. Namun darah juga memiliki beberapa kekurangan seperti prosedur yang invasif, keterbatasan volume sampel, dan variabilitas individu yang dapat memengaruhi hasil analisis (Mathew et al., 2023).

3.2. Urin

Urin merupakan larutan berwarna kuning yang mengandung >95% air dengan berbagai produk sampingan berupa senyawa metabolik seperti urea, klorida, natrium, kalium, dan kreatinin serta senyawa organik dan anorganik lainnya. pH urine dapat bervariasi dalam kisaran normal 5,7–7,0. Sampel urin dalam bioanalisis menawarkan kelebihan seperti kemudahan pengambilan, kenyamanan bagi pasien, dan kemampuannya untuk mencerminkan pengeluaran metabolit dan produk limbah tubuh. Namun, terdapat kekurangan di mana ikatan non-spesifik yang dapat terjadi

selama analisis kuantitatif. Peneliti harus harus mengetahui ikatan non-spesifik pada analit sebelum mengembangkan metode ekstraksi analit dalam sampel urin. Selain itu variasi volume dan komposisi urin yang mungkin disebabkan oleh perbedaan aktivitas fisik, kondisi lingkungan, serta asupan air, garam, dan protein tinggi perlu menjadi perhatian (Rose et al., 2015).

3.3. Saliva

Saliva menjadi perhatian sebagai matriks sampel dalam bioanalisis karena pengumpulannya yang mudah dan noninvasif, saliva tidak hanya bermanfaat dalam ilmu endokrinologi dan tetapi juga dalam kasus pengumpulan sampel pediatri. Air liur juga memiliki keuntungan karena menjadi cairan tubuh yang dapat dikumpulkan bahkan selama latihan fisik, misalnya, selama kegiatan olahraga, dan ada karakteristik fisiologis yang membuatnya lebih unggul daripada serum atau plasma atau urin untuk kasus tertentu. Namun, ada kekurangan terkait dengan konsentrasi analit yang lebih rendah, variabilitas yang dipengaruhi oleh faktor oral, serta keterbatasan dalam mendeteksi senyawa tertentu yang tidak ekskresikan dalam jumlah signifikan (Gröschl, 2017).

3.4. Cairan serebrospinal (CSF)

CSF adalah cairan tubuh bening dan tidak berwarna yang diproduksi oleh pleksus korda ventrikel otak. Cairan ini berfungsi sebagai bantalan atau penyangga bagi korteks otak, yang memberikan perlindungan mekanis dan imunologis dasar bagi otak di dalam tengkorak. Sekitar 80% CSF terkandung dalam ruang araknoid di tengkorak dan sumsum tulang belakang, di mana sejumlah kecil dapat diambil untuk bioanalisis melalui pungsi lumbal. CSF

memiliki kelebihan dalam memberikan informasi langsung tentang kondisi sistem saraf pusat, memungkinkan deteksi biomarker spesifik, dan membantu diagnosis serta pemantauan penyakit otak. Namun, kekurangan utama termasuk prosedur pengambilan yang invasif dan berisiko, serta volume sampel yang terbatas (Ji, 2019).

3.5. Keringat

Keringat merupakan sampel biologis yang saat ini memperoleh popularitas dalam bioanalisis sebagai biofluida noninvasif yang dapat digunakan dalam investigasi diagnostik dan biomarker. Pengambilan sampel keringat biasanya dirangsang oleh panas atau bahan kimia, seperti pilokarpin, untuk memperoleh volume cairan biologis yang cukup untuk analisisnya. Keuntungan keringat adalah noninvasif, tidak terlalu rumit dibandingkan urin, relatif bebas dari gangguan, dan persiapan sampel jauh lebih sederhana daripada matriks lainnya. Kekurangan utama keringat sebagai sampel klinis adalah kesulitan untuk menghasilkan keringat yang cukup untuk analisis, kurangnya alat pengambilan sampel yang tepat, dan normalisasi volume sampel (Jadoon et al., 2015).

4. Preparasi sampel

Preparasi sampel adalah metode pemisahan analit target dari matriks sampel agar memiliki bentuk yang sesuai berdasarkan sifat fisika, kimia, atau biologis sebelum analisis kualitatif dan atau kuantitatif. Sebelum analisis, ekstraksi dan pemisahan analit target, proses pemekatan, dan proses lainnya harus dilakukan untuk menghilangkan pengaruh matriks. Prosedur penyiapan sampel yang optimal untuk

mendeteksi analit dalam matriks biologis harus mencapai perolehan kembali yang maksimal, menghilangkan molekul endogen yang berpotensi mengganggu, serta cepat, sederhana, dengan biaya yang terjangkau (Xia et al., 2020). Presipitasi protein, ekstraksi cair-cair, ekstraksi fase padat, atau kombinasi dua atau lebih teknik ini yang melibatkan ekstraksi analit, pembersihan, dan pra-konsentrasi sebelum pemisahan kromatografi umumnya digunakan dalam preparasi sampel biologis (Zheng & Wang, 2019).

4.1. Presipitasi protein

Presipitasi protein (PP) merupakan prosedur paling umum dan paling banyak digunakan untuk preparasi sampel biologis. PP paling sering diinduksi dengan penambahan pelarut organik ke dalam darah, plasma, atau serum, yang mengubah solvasinya dalam air. Dengan menggunakan sentrifugasi, presipitasi protein kemudian dipisahkan dari target analit. Karena biayanya yang murah dan persyaratan metode yang terbatas, teknik ini merupakan salah satu yang paling umum digunakan untuk matriks biologis (Salina & Regazzoni, 2025).

4.2. Ekstraksi cair-cair

Salah satu metode preparasi sampel yang banyak digunakan untuk analisis sampel biologis adalah ekstraksi cair-cair (LLE). Prinsip koefisien partisi oktanol-air digunakan dalam LLE untuk memindahkan analit dari sampel berair ke pelarut yang tidak dapat bercampur dengan air. Beberapa masalah yang seringkali muncul dalam LLE konvensional adalah pembentukan emulsi, kebutuhan akan jumlah sampel yang banyak, dan potensi bahaya pelarut organik.

Metode LLE terkadang memerlukan beberapa prosedur yang sulit diotomatisasi.

4.3. Mikroekstraksi

Sifat analit dan matriks, serta teknik kromatografi dan deteksi yang akan digunakan harus selalu dipertimbangkan ketika memilih prosedur persiapan sampel. Dalam preparasi sampel biologis, teknik mikroekstraksi seperti dispersif mikroekstraksi cair-cair (DLME) dan mikroekstraksi fase padat (SPME) sangat membantu, terutama ketika jumlah sampel yang akan digunakan terbatas. Metode SPME menggabungkan proses pengambilan sampel, ekstraksi, dan prakonsentrasi analit menjadi satu tahapan. Adsorben yang digunakan dalam mikroekstraksi dapat berbentuk padat atau cair, tergantung pada serat inert yang dilapiskan pada polimer. Berbagai jenis analit ditransfer ke permukaan padat setelah berinteraksi dengan biomatriks cair tergantung pada afinitasnya terhadap bahan yang dilapisi. Serat yang ada akan mengekstraksi analit secara proporsional dengan konsentrasinya dalam sampel pada keadaan setimbang (Locatelli et al., 2019). Metode DLME didasarkan pada sistem pelarut terner yang memanfaatkan kombinasi pelarut organik yang tidak bercampur dengan air sebagai pelarut ekstraksi dan pelarut organik yang bercampur dengan air sebagai pelarut pendispersi (Manousi & Samanidou, 2021).

4.4. Ekstraksi fasa padat

Ekstraksi fase padat adalah metode pemisahan yang dilakukan menggunakan fase padat sebagai fase diam, fasa cair digunakan sebagai eluen dalam pemisahan. Ekstraksi fase padat memiliki beberapa bentuk seperti ekstraksi fase padat katrid,

disk SPE, *multi-well* SPE, ekstraksi mikro fase padat, dan *In Tube*-SPME. Prinsip kerja dari pemisahan ekstraksi fase padat adalah perbedaan afinitas antara analit dan komponen pengganggu terhadap fase diam dan fase gerak. Sifat fisikokimia dari analit akan menentukan kekuatan afinitas yang terjadi, interaksi antara analit dengan fase diam yang tinggi akan membuat analit tertahan pada fase diam sehingga terjadinya pemisahan antara analit dengan komponen pengganggu.

Ekstraksi fase padat terdiri atas dua komponen yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak berupa pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda. Biasanya, pelarut yang digunakan adalah air sebagai pelarut polar dan pelarut organik seperti metanol, asetonitril, dan etil asetat sebagai pelarut non-polar. Fase gerak atau pelarut pada ekstraksi fase padat berguna untuk menggerakkan sampel di dalam kolom SPE, membersihkan komponen pengganggu dalam fase diam, serta membantu elusi analit dari fase diam. Fase diam pada ekstraksi fase padat berupa fase padat atau sering disebut sebagai sorben (Badawy et al., 2022). Sorben berbasis silika merupakan sorben yang sangat populer digunakan dalam sampel biologis terutama silika C18, sorben ini memiliki tingkat hidrofobisitas yang kuat sehingga memberikan daya retensi yang tinggi terhadap banyak senyawa. (Apffel et al., 2021).

4.5. *Molecularly Imprinted Polymer*

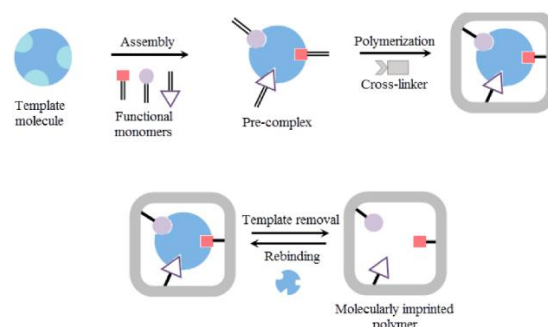
Molecularly imprinted polymer (MIP) atau polimer tercetak molekul merupakan suatu polimer sintetik yang secara spesifik didesain untuk mendeteksi suatu analit atau grup senyawa tertentu dengan struktur yang serupa (He et al.,

2021). Penggunaan MIP memungkinkan adanya suatu detektor dalam tahap analisis yang bersifat sangat spesifik karena adanya penggunaan molekul target sebagai “cetakan” dari struktur MIP dalam proses sintesisnya (Dong et al., 2021). Pada MIP, terdapat sisi berongga yang berperan sebagai situs pengikatan bagi molekul target dengan afinitas tertentu. Melalui penggunaan MIP, memungkinkan adanya deteksi senyawa dengan spesifisitas deteksi yang lebih baik (Sajini & Mathew, 2021).

Dibandingkan dengan metode pemisahan lainnya, MIP memiliki beberapa keunggulan: struktur yang dapat diprediksi, pengenalan molekul target yang spesifik, dan aplikasi yang luas di berbagai bidang, yang membuatnya berguna untuk berbagai aplikasi, termasuk sorben untuk ekstraksi fase padat, kromatografi kolom fase stasioner, pemisahan rasemat, dan katalis reaksi kimia (Arabi et al., 2020). MIP juga banyak diaplikasikan ke dalam prinsip pemisahan atau ekstraksi fase padat yang umum disebut sebagai *molecular imprinted polymer solid phase extraction* (MISPE). Metode ini dianggap memiliki efisiensi ekstraksi dengan selektivitas yang jauh lebih tinggi dibanding metode pemisahan ekstraksi fase padat konvensional (Suzaei et al., 2022). MIP umumnya terbuat dari polimer organik yang dipolimerisasi menggunakan monomer fungsional dan agen pengikat silang di dalam pelarut porogen (pembentuk pori).

Jenis interaksi yang paling umum digunakan dalam proses sintesis MIP adalah interaksi kovalen dan non kovalen (Elugoke et al., 2021). Keuntungan dari interaksi kovalen adalah polimer yang dihasilkan memiliki ikatan spesifik dengan molekul cetakan, sehingga akan mengurangi interaksi yang tidak

diinginkan. Namun, kekurangannya adalah lebih sulitnya proses pelepasan molekul cetakan setelah sintesis, diperlukannya waktu yang lebih lama ketika pengikatan ulang (*rebinding*), serta pilihan yang lebih terbatas untuk monomer dan molekul cetakannya. Pada metode non-kovalen, ikatan yang terbentuk lebih lemah daripada ikatan kovalen, seperti ikatan hidrogen, interaksi dipol-dipol, van der Waals, dan elektrostatis. Kelebihannya adalah proses sintesis yang lebih sederhana, proses pelepasan molekul cetakan yang lebih cepat, dan pilihan monomer yang lebih luas. Namun, kekurangannya adalah afinitas ikatan yang bervariasi dan kurang selektif, dimana terkadang MIP dapat mengenali senyawa lain yang mirip dengan molekul cetakan (Chen et al., 2022).



Gambar 1. Skema pembentukan MIP
(Saylan et al., 2019)

5. Komponen MIP

5.1. Molekul cetakan

MIP tersusun atas beberapa komponen esensial, meliputi molekul cetakan, monomer fungsional, pengikat silang, pelarut porogen, dan inisiator untuk proses sintesisnya. Molekul cetakan akan mempengaruhi pemilihan monomer fungsional, agen pengikat silang, inisiator, dan pelarut porogen. Molekul cetakan pada MIP umumnya merupakan senyawa target yang akan digunakan ketika analisis

(Madikizela et al., 2017). Beberapa proses polimerisasi membutuhkan panas, komponen radikal, dan porogen yang dapat mempengaruhi stabilitas molekul cetakan. Oleh karena itu, molekul cetakan yang digunakan dalam sintesis MIP harus dapat berkompleks stabil dengan monomer fungsionalnya. Untuk membentuk kompleks yang stabil, molekul cetakan harus memiliki gugus fungsi yang inert, serta stabilitas kimia dan suhu yang baik sehingga cetakan tidak akan terdegradasi ketika proses polimerisasi.

5.2. Monomer fungsional

Monomer fungsional adalah komponen yang bereaksi dengan molekul cetakan untuk membentuk kompleks pre-polimerisasi. Senyawa ini biasanya memiliki gugus fungsi yang dapat berinteraksi secara spesifik dengan molekul cetakan, seperti ikatan hidrogen, interaksi ionik, atau interaksi hidrofobik. Monomer fungsional berperan dalam membentuk situs pengikatan yang dapat mengenali dan mengikat molekul target secara selektif. Umumnya monomer fungsional terdiri atas dua unit, satu unit pengenalan, dan satu unit polimerisasi. Unit pengenalan adalah bagian yang berinteraksi atau mengenali molekul target melalui ikatan spesifik. Sedangkan unit polimerisasi adalah bagian yang memungkinkan monomer untuk bergabung dengan monomer lain melalui reaksi polimerisasi untuk membentuk struktur polimer (Boukadida et al., 2022). Adapun beberapa jenis monomer fungsional yang banyak digunakan dalam sintesis MIP diantaranya yaitu, metil metakrilat, 2-hidroksietil metakrilat, akrilamid, stirena, metakrilamid, asam metakrilat, asam akrilat, asam trifluorometil akrilik, asam itakonat, asam

p-vinilbenzoat, 2-vinilpiridin, 4-vinilpiridin, dan 4(5)-vinilimidazol (Niu et al., 2024).

5.3. Pengikat Silang

Pengikat silang adalah senyawa yang digunakan untuk menghubungkan monomer fungsional satu dengan yang lainnya di sekitar molekul cetakan, membentuk jaringan polimer tiga dimensi selama proses polimerisasi. Senyawa ini membantu mengatur kekuatan, bentuk, dan stabilitas struktur polimer yang dihasilkan. Pengikat silang berfungsi untuk meningkatkan stabilitas mekanis dan kimia dari MIP, serta membantu dalam membentuk pori-pori di dalam polimer yang penting untuk proses pengikatan. Jenis dan jumlah agen pengikat silang akan berpengaruh signifikan pada selektivitas dan kapasitas pengikatan MIP, jika jumlahnya terlalu sedikit, sifat mekanik MIP akan menjadi tidak stabil. Sebaliknya, jika agen pengikat silang terlalu banyak, maka jumlah situs pengenalan per satuan massa dari MIP akan berkurang. Beberapa contoh dari agen pengikat silang ini adalah etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) dan divinilbenzena (DVB) (Boukadida et al., 2023).

5.4. Porogen

Porogen adalah pelarut yang digunakan dalam proses sintesis untuk membantu membentuk pori-pori dalam struktur polimer. Pelarut ini biasanya tidak terikat secara permanen pada polimer yang terbentuk dan dapat dihilangkan setelah proses sintesis. Pelarut porogen harus dapat melarutkan molekul cetakan, monomer, inisiator, dan pengikat silang. Pelarut porogen juga harus dapat menghasilkan pori besar dan memiliki polaritas yang tidak

terlalu tinggi agar tidak mengganggu proses pembentukan kompleks pre-polimerisasi. Beberapa contoh pelarut porogen adalah asetonitril, kloroform, diklorometana, dan toluena (Foroughirad et al., 2021).

5.5. Inisiator

Inisiator adalah senyawa yang akan memulai proses polimerisasi dengan memproduksi radikal bebas, tanpa senyawa ini MIP tidak bisa terbentuk. Sebagian besar MIP dibuat menggunakan polimerisasi radikal bebas (FRP). Pada metode FRP, berbagai monomer fungsional dan molekul cetakan dapat diinisiasi secara fotokimia atau termal. Senyawa peroksida dan turunan azo sering digunakan sebagai inisiator. Beberapa contoh inisiator adalah azo-bis-isobutirilonitril (AIBN), benzoil peroksida, dan benzoin metil eter. Untuk memastikan reaksi polimerisasi berlangsung sempurna penting untuk menghilangkan oksigen terlarut dengan menggunakan ultrasonikasi atau pembubuhan gas inert (Veloz Martínez et al., 2022).

6. Aplikasi MIP dalam bioanalisis

MIP telah menjadi salah satu metode pilihan dalam pengembangan metode bioanalisis karena dapat menjawab tantangan yang ada yaitu preparasi sampel yang efektif dan efisien, efek interferensi matriks dapat ditekan dengan MIP karena sifat selektifnya terhadap molekul target yang merupakan senyawa yang akan dianalisis. Dalam bagian berikut, akan dibahas penerapan MIP dalam bioanalisis berbagai senyawa obat.

6.1. Anti inflamasi

Penerapan bioanalisis NSAID mencakup beberapa aspek penting dalam

pemantauan terapi dan pengembangan obat, salah satunya untuk studi farmakokinetik senyawa turunannya. MIP telah digunakan untuk analisis senyawa NSAID berupa ibuprofen. Metode yang ada memberikan perolehan kembali relatif dalam sampel nyata dalam kisaran 91 sd 99% dengan batas deteksi 7,89 ng/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kuantitas parameter utama yang diperoleh seperti C_{max} dan waktu paruh sesuai dengan hasil studi farmakokinetik yang dilaporkan sebelumnya. MIP yang diperoleh juga menunjukkan selektivitas yang tinggi untuk mengekstrak ibuprofen dengan adanya naproxen, fenoprofen, dan ketoprofen (Ebrahimi et al., 2023).

6.2. Beta bloker

Atenolol merupakan β -blocker kardio-selektif yang digunakan dalam pengobatan hipertensi dalam jangka panjang. Namun, ATE, seperti propranolol, memiliki potensi besar untuk disalahgunakan sebagai obat peningkat performa dalam beberapa cabang olahraga. MIP dengan kombinasi SPE digunakan untuk deteksi propranolol dalam sampel darah dengan perolehan kembali sebesar $93,65 \pm 1,29\%$ dari serum darah dengan selektivitas yang sangat baik terhadap obat β -blocker lainnya (Hasanah et al., 2019).

6.3. Biomarker

Senyawa biomarker yang merupakan karakteristik indikator respons biologis terhadap paparan atau intervensi terapi dapat dianalisis menggunakan MIP. MIP telah dikembangkan untuk asam hipurat yang merupakan molekul yang telah diidentifikasi sebagai biomarker kanker paru-paru baik dalam urin maupun plasma. Metode menunjukkan hasil yang

selektif dan tahan lama digunakan hingga 50 ekstraksi tanpa penurunan signifikan dalam efisiensi ekstraksi dengan kombinasinya menggunakan LC/MS-MS. Batas deteksi dan kuantifikasi dalam sampel plasma dan urin manusia masing-masing adalah 0,3 dan 1,0 nmol/L. Kurva kalibrasi standar diperoleh dalam kisaran konsentrasi 1–2000 nmol/L, koefisien determinasi $\geq 0,998$ dengan perolehan kembali $> 89\%$ dalam sampel plasma dan urin manusia (Moein et al., 2015).

6.4. Narkotika

MIP telah dikembangkan untuk mendeteksi amfetamin, senyawa yang menstimulasi sistem saraf pusat dan diklasifikasikan sebagai obat terlarang. Kemampuan MIP dalam mengekstrak amfetamin dari sampel urin manusia diikuti oleh analisis LC–MS/MS. Metode analisis memberikan hasil yang valid dengan batas deteksi (LOD) 1,0 ng/mL dan batas bawah kuantifikasi (LLOQ) 5 ng/mL, akurasi metode sebesar 91,0–104,0% dan presisi antar-pengujian adalah 4,8–8,5% (RSD). Sorben MIP yang dihasilkan dapat digunakan kembali dan untuk lebih dari dua puluh kali proses ekstraksi (El-Beqqali et al., 2017).

6.5. Antibiotik

Bioanalisis antibiotik diperlukan untuk memastikan efektivitas, keamanan, dan pemantauan terapinya. MIP yang disintesis dengan teknik pencetakan permukaan telah dikembangkan untuk adsorpsi selektif ampisilin. MIP menunjukkan kapasitas adsorpsi yang besar (13,5 $\mu\text{g}/\text{mg}$), kemampuan pengenalan yang tinggi sebagai adsorben ekstraksi fase padat. Validasi metode memberikan hasil yang memenuhi persyaratan dengan nilai

rerata akurasi pada sampel *spiked* yang berkisar antara 92,1% hingga 107,6% dengan standar deviasi relatif presisi intra-dan inter-hari kurang dari 4,6% (Wu et al., 2016).

6.6. Anti jamur

Beberapa antijamur seperti turunan triazol direkomendasikan untuk dilakukan pemantauan terapi untuk memastikan efektivitas terapi dan meminimalkan toksisitasnya. Pengembangan MIP untuk bioanalisis antijamur triazol dalam plasma darah telah dikembangkan. Penelitian menunjukkan bahwa MIP dapat digunakan untuk analisis vorikonazol, itrakonazol, dan flukonazol secara simultan dengan penggunaan multi molekul cetakan. MIP yang ada dipacking ke dalam sistem SPE di mana kartrid dapat digunakan hingga 3 kali berulang dengan perolehan kembali antijamur triazol yang lebih tinggi daripada SPE C_{18} di pasaran dengan persen perolehan kembali untuk vorikonazol, itrakonazol, dan flukonazol berturut-turut sebesar 86,19, 90,81, dan 80,44% (Gunawan et al., 2024).

Penelitian lain terkait penerapan MIP dalam bioanalisis senyawa dilampirkan pada Tabel 2, yang menunjukkan bahwa MIP yang kemampuan yang selektif dalam mengenali molekul target dapat digunakan dapat digunakan untuk bioanalisis berbagai golongan obat, termasuk antibiotik, antidepresan, analgesik, beta blocker, simpatomimetik, anxiolitik, antiepileptik, obat kardiovaskular, imunosupresan, dan antihistamin. Sampai saat ini, sampel darah dan urin menjadi jenis sampel yang paling umum digunakan dalam bioanalisis menggunakan MIP. Selain itu, metode kromatografi dengan detektor spektrometri

masa telah menjadi pilihan utama karena sensitivitas dan selektifnya yang tinggi

dalam menganalisis senyawa yang telah dipisahkan menggunakan MIP.

Tabel 2. Penggunaan MIP untuk bioanalisis senyawa obat

No	Senyawa	Matriks	Metode analisis	Pustaka
1	p-Aminosalicylic acid	Urin	HPLC-UV	(Bagheri et al., 2016)
2	Abacavir	Urin	LC-MS	(Terzopoulou et al., 2016)
3	Amiodarone	Plasma	LC-MS	(Banan et al., 2022)
4	Amphetamine	Urin	LC-MS/MS	(El-Beqqali & Abdel-Rehim, 2016)
5	Antazoline, Hydroxyantazoline	Plasma	LC-MS/MS	(Giebultowicz et al., 2019)
6	Atenolol	Urin	Spectrofluorometer	(Gorbani et al., 2017)
7	Buprenorphine	Urin	HPLC-FLD	(Habibi et al., 2018)
8	Catecholamines	Plasma	UHPLC-MS/MS	(Podjava & Šilaks, 2021)
9	Carbamazepine	Serum	HPLC-UV	(Alvani-Alamdari et al., 2019)
10	Ceftazidime	Urin, serum	HPLC-DAD	(Jaoshani & Daryasari, 2020)
11	Chloramphenicol, Florfenicol, Thiamphenicol	Darah	HPLC-UV	(Wei et al., 2016)
12	Cocaine, Methamphetamine	Saliva	LC-MS/MS	(Díaz-Liñán et al., 2021)
13	Cotinine	Urin	LC-MS/MS	(Mulder et al., 2023)
14	Fluoroquinolones	Plasma, Serum	HPLC-UV	(Mirzajani & Kardani, 2016)
15	Fluoxetine	Urin	Spectrofotometer UV	(Barati et al., 2017)
16	Indomethacin	Urine, Plasma	HPLC-UV	(Asiabi et al., 2016)
17	Ketorolac	Plasma	Spectrofotometri UV	(Mabrouk et al., 2020)
18	Levofloxacin	Plasma	UHPLC-MS	(Meng & Wang, 2019)
19	Melatonin	Urin, Plasma	HPLC-UV	(Dil et al., 2021)
20	Meropenem	Plasma, Urin	HPLC-PDA	(Amlashi et al., 2019)
21	Phenobarbital	Urin	HPLC-UV	(Rahimi & Bahar, 2023)
22	Prednisolone	Urin	HPLC-UV	(Arabi et al., 2016)
23	Propranolol	Bovin serum	HPLC-MS	(Tu et al., 2021)
24	Ribavirin	Urin	HPLC-UV	(Zafarghandi et al., 2022)
25	Risperidon	Urin	HPLC-DAD	(W.-H. Ji et al., 2018)
26	Sotalol	Urin	HPLC-UV	(Ansari & Karimi, 2017)
27	Telmisartan	Urin	Spectrofluorometer	(Yılmaz & Basan, 2015)
28	Valproic acid	EBC	GC-MS	(Jouyban et al., 2021)
29	Venlafaxine	Urin, serum	Spectrofluorometer	(Madrakian et al., 2015)
30	Zolpidem	Plasma	HPLC-FLD	(Alimohammadi & Pourmoslemi, 2021)

SIMPULAN

Analisis senyawa seperti obat-obatan, biomarker, dan hormon, merupakan hal yang paling penting untuk bioanalisis. Plasma, darah, dan urin adalah matriks yang jauh lebih kompleks sehingga

ekstraksi target dari matriks biologis menjadi tantangan. Oleh karena itu, metode preprasi sampel sebelum analisis sangat penting untuk meminimalkan efek matriks, terutama untuk senyawa yang aktif dalam matriks biologis. Berdasarkan hasil

penelitian, dapat disimpulkan bahwa MIP merupakan metode potensial yang dapat digunakan untuk bioanalisis. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi pada pengembangan strategi yang lebih baik untuk dapat proses preparasi sampel dalam bioanalisis. Penelitian ini juga dapat menjadi temuan untuk membuka peluang penelitian lebih lanjut tentang MIP untuk bioanalisis.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

PERNYATAAN PENULIS

Para penulis dengan ini menyatakan bahwa karya yang disajikan dalam artikel ini adalah asli dan bahwa segala tanggung jawab atas klaim yang berkaitan dengan isi artikel ini akan ditanggung oleh mereka.

DAFTAR PUSTAKA

- Apffel, A., Zhao, L., & Sartain, M. J. (2021). A novel solid phase extraction sample preparation method for lipidomic analysis of human plasma using liquid chromatography/mass spectrometry. *Metabolites*, 11(5), 11050294. <https://doi.org/10.3390/metabo11050294>
- Arabi, M., Ostovan, A., Reza, A., Guo, X., Wang, L., Li, J., Wang, X., Li, B., & Chen, L. (2020). *Trends in Analytical Chemistry Strategies of molecular imprinting-based solid-phase extraction prior to chromatographic analysis*. 128.
- Badawy, M. E. I., El-Nouby, M. A. M., Kimani, P. K., Lim, L. W., & Rabea, E. I. (2022). A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. *Analytical Sciences*, 38(12), 1457–1487. <https://doi.org/10.1007/s44211-022-00190-8>
- Boukadida, M., Anene, A., Jaoued-Grayaa, N., Chevalier, Y., & Hbaieb, S. (2022). Choice of the functional monomer of molecularly imprinted polymers: Does it rely on strong acid-base or hydrogen bonding interactions? *Colloids and Interface Science Communications*, 50(August), 100669. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2022.100669>
- Boukadida, M., Jaoued-Grayaa, N., Anene, A., Chevalier, Y., & Hbaieb, S. (2023). Effect of cross-linking agents on the adsorption of histamine on molecularly imprinted polyacrylamide. *Polymer*, 268, 125724. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.polymer.2023.125724>
- Chen, H., Guo, J., Wang, Y., Dong, W., Zhao, Y., & Sun, L. (2022). Bio-Inspired Imprinting Materials for Biomedical Applications. *Advanced Science*, 9(28), 2202038. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adv.202202038>
- Dong, C., Shi, H., Han, Y., Yang, Y., Wang, R., & Men, J. (2021). Molecularly imprinted polymers by the surface imprinting technique. *European Polymer Journal*, 145, 110231. <https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2020.110231>
- Ebrahimi, B., Mozaffari, S., & Mohammadiazar, S. (2023). Pharmacokinetic study and the extraction efficiency of bulk and precipitated ibuprofen-imprinted polymer sorbents for gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry ibuprofen bio-analysis. *Journal of Separation Science*, 46(13), 2201031. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jssc.202201031>
- El-Beqqali, A., Andersson, L. I., Jeppsson, A. D., & Abdel-Rehim, M. (2017). Molecularly imprinted polymer-sol-gel tablet toward micro-solid phase extraction: II. Determination of amphetamine in

- human urine samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1063, 130–135. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.08.027>
- Elugoke, S. E., Adekunle, A. S., Fayemi, O. E., Akpan, E. D., Mamba, B. B., Sherif, E.-S. M., & Ebenso, E. E. (2021). Molecularly imprinted polymers (MIPs) based electrochemical sensors for the determination of catecholamine neurotransmitters – Review. *Electrochemical Science Advances*, 1(2), e2000026. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elsa.202000026>
- Foroughirad, S., Haddadi-Asl, V., Khosravi, A., & Salami-Kalajahi, M. (2021). Effect of porogenic solvent in synthesis of mesoporous and microporous molecularly imprinted polymer based on magnetic halloysite nanotubes. *Materials Today Communications*, 26, 101780. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2020.101780>
- Gröschl, M. (2017). Saliva: A Reliable Sample Matrix in Bioanalytics. *Bioanalysis*, 9(8), 655–668. <https://doi.org/10.4155/bio-2017-0010>
- Gunawan, U., Ibrahim, S., Ivansyah, A. L., & Damayanti, S. (2023). Separation and analysis of triazole antifungal in biological matrices by liquid chromatography: a review. *Pharmacia*, 70(4), 1265–1281. <https://doi.org/10.3897/PHARMACIA.70.E111511>
- Gunawan, U., Ibrahim, S., Ivansyah, A. L., & Damayanti, S. (2024). Unraveling multi-template molecularly imprinted polymer for selective extraction of triazole antifungals: Theoretical and experimental investigation. *Reactive and Functional Polymers*, 200. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2024.105915>
- Hasanah, A. N., Rahayu, D., Pratiwi, R., Rostinawati, T., Megantara, S., Saputri, F. A., & Puspanegara, K. H. (2019). Extraction of atenolol from spiked blood serum using a molecularly imprinted polymer sorbent obtained by precipitation polymerization. *Heliyon*, 5(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01533>
- He, S., Zhang, L., Bai, S., Yang, H., Cui, Z., Zhang, X., & Li, Y. (2021). Advances of molecularly imprinted polymers (MIP) and the application in drug delivery. *European Polymer Journal*, 143, 110179. <https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2020.110179>
- Ingle, R. G., Zeng, S., Jiang, H., & Fang, W.-J. (2022). Current developments of bioanalytical sample preparation techniques in pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(4), 517–529. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpaha.2022.03.001>
- Jadoon, S., Karim, S., Akram, M. R., Kalsoom Khan, A., Zia, M. A., Siddiqi, A. R., & Murtaza, G. (2015). Recent Developments in Sweat Analysis and Its Applications. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2015(1), 164974. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2015/164974>
- Ji, A. J. (2019). Sample Preparation for LC-MS Bioanalysis of Urine, Cerebrospinal Fluid, Synovial Fluid, Sweat, Tears, and Aqueous Humor Samples. In *Sample Preparation in LC-MS Bioanalysis* (pp. 225–237). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119274315.ch18>
- Kadian, N., Raju, K. S. R., Rashid, M., Malik, M. Y., Taneja, I., & Wahajuddin, M. (2016). Comparative assessment of bioanalytical method validation guidelines for pharmaceutical industry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 126, 83–97.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.052>
- Kaza, M., Karaźniewicz-Łada, M., Kosicka, K., Siemiątkowska, A., & Rudzki, P. J. (2019). Bioanalytical method validation: new FDA guidance vs. EMA guideline. Better or worse? *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 165, 381–385. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.12.030>
- Kul, A., & and Sagirli, O. (2023). A New Method for the Therapeutic Drug Monitoring of Chlorpromazine in Plasma by Gas Chromatography–Mass Spectrometry Using Dispersive Liquid–Liquid Microextraction. *Bioanalysis*, 15(22), 1343–1354. <https://doi.org/10.4155/bio-2023-0176>
- Locatelli, M., Tartaglia, A., Piccolantonio, S., Di Iorio, A. L., Sperandio, E., Ulusoy, I. H., Furton, G. K., & Kabir, A. (2019). Innovative Configurations of Sample Preparation Techniques Applied in Bioanalytical Chemistry: A Review. In *Current Analytical Chemistry* (Vol. 15, Issue 7, pp. 731–744). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/1573411015666190301145042>
- Lockard Conley, & Schwartz Robert. (2024, September 26). *Blood | Definition, Composition, & Functions | Britannica*. Britannica. <https://www.britannica.com/science/blood-biochemistry>
- Madikizela, L., Tavengwa, N., & Pakade, V. E. (2017). Molecularly Imprinted Polymers for Pharmaceutical Compounds: Synthetic Procedures and Analytical Applications. In N. Cankaya (Ed.), *Polymerization*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71475>
- Manousi, N., & Samanidou, V. (2021). Green sample preparation of alternative biosamples in forensic toxicology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 20, 100388. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scnp.2021.100388>
- Mathew, J., Sankar, P., & Varacallo, M. (2023). Physiology, Blood Plasma. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531504/>
- Moein, M. M., El Beqqali, A., & Abdel-Rehim, M. (2017). Bioanalytical method development and validation: Critical concepts and strategies. *Journal of Chromatography B*, 1043, 3–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.09.028>
- Moein, M. M., Javanbakht, M., Karimi, M., Akbari-adergani, B., & Abdel-Rehim, M. (2015). Three-phase molecularly imprinted sol–gel based hollow fiber liquid-phase microextraction combined with liquid chromatography–tandem mass spectrometry for enrichment and selective determination of a tentative lung cancer biomarker. *Journal of Chromatography B*, 995–996, 38–45. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.05.005>
- Niu, J., Du, M., Wu, W., Yang, J., & Chen, Q. (2024). Advances in the selection of functional monomers for molecularly imprinted polymers: A review. *Journal of Separation Science*, 47(16), 2400353. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jssc.202400353>
- Poliwoda, A., & Wiczorek, P. P. (2022). Molecularly Imprinted Polymers as Useful Sorbents for Bioanalysis. In B. Buszewski & I. Baranowska (Eds.), *Handbook of Bioanalytics* (pp. 1047–1063). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-95660-8_49
- Rose, C., Parker, A., Jefferson, B., & Cartmell, E. (2015). The Characterization of Feces and Urine: A Review of the Literature to Inform Advanced Treatment Technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45(17), 1827–1879. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10449779.2015.1057147>

- <https://doi.org/10.1080/10643389.2014.1000761>
- Rudrapal, M., Kothawade, A. P., Ezzat, S. M., & Egbuna, C. (2022). Chapter 1 - Bioanalysis: methods, techniques, and applications. In C. Egbuna, K. C. Patrick-Iwuanyanwu, M. A. Shah, J. C. Ifemeje, & A. Rasul (Eds.), *Analytical Techniques in Biosciences* (pp. 1–24). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822654-4.00002-6>
- Sajini, T., & Mathew, B. (2021). A brief overview of molecularly imprinted polymers: Highlighting computational design, nano and photo-responsive imprinting. *Talanta Open*, 4, 100072. <https://doi.org/10.1016/J.TALO.2021.100072>
- Salina, E., & Regazzoni, L. (2025). Protein Precipitation by Metal Hydroxides as a Convenient and Alternative Sample Preparation Procedure for Bioanalysis. *Molecules*, 30(1). <https://doi.org/10.3390/molecules30010002>
- Saylan, Y., Akgönüllü, S., Yavuz, H., Ünal, S., & Denizli, A. (2019). Molecularly imprinted polymer based sensors for medical applications. In *Sensors (Switzerland)* (Vol. 19, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/s19061279>
- Suzaci, F. M., Daryanavard, S. M., Abdel-Rehim, A., Bassyouni, F., & Abdel-Rehim, M. (2022). Recent molecularly imprinted polymers applications in bioanalysis. *Chemical Papers* 2022 77:2, 77(2), 619–655. <https://doi.org/10.1007/S11696-022-02488-3>
- Vanitha Madhuri T, Manasa Krishna Pandreka, Geetha Gayatri B, Yamini M, Abhishek G, Edward Raju Gope, Raghava D, & Nageswara Rao K. (2024). Advances in High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC). *Journal of Pharma Insights and Research*, 2(6), 039–046. <https://doi.org/10.69613/t4nhz921>
- Veloz Martínez, I., Ek, J. I., Ahn, E. C., & Sustaita, A. O. (2022). Molecularly imprinted polymers via reversible addition–fragmentation chain-transfer synthesis in sensing and environmental applications. *RSC Advances*, 12(15), 9186–9201. <https://doi.org/10.1039/D2RA00232A>
- Wisnuwardhani, H. A., Ibrahim, S., Mukti, R. R., & Damayanti, S. (2022). Molecularly-Imprinted SERS: A Potential Method for Bioanalysis. In *Scientia Pharmaceutica* (Vol. 90, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/scipharm90030054>
- Wu, N., Luo, Z., Ge, Y., Guo, P., Du, K., Tang, W., Du, W., Zeng, A., Chang, C., & Fu, Q. (2016). A novel surface molecularly imprinted polymer as the solid-phase extraction adsorbent for the selective determination of ampicillin sodium in milk and blood samples. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(3), 157–164. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpaha.2016.01.004>
- Xia, L., Yang, J., Su, R., Zhou, W., Zhang, Y., Zhong, Y., Huang, S., Chen, Y., & Li, G. (2020). Recent Progress in Fast Sample Preparation Techniques. *Analytical Chemistry*, 92(1), 34–48. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04735>
- Zheng, Y. Z., & Wang, S. (2019). Advances in antifungal drug measurement by liquid chromatography-mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta*, 491, 132–145. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.01.023>