

P-ISSN 1693-8666

E-ISSN 2657-1420

available at <http://journal.uin.ac.id/index.php/JIF>

*Scientific Journal of Pharmacy*

**JIF** **JURNAL  
ILMIAH  
FARMASI**

**JIF | Edisi 2 | Agustus-Desember 2020 | Hal.96-203**



UNIVERSITAS  
ISLAM  
INDONESIA

Jurusan Farmasi FMIPA UIN  
Jl. Kaliurang Km. 14,4  
Yogyakarta 55584  
Telp. (0274) 896439 ext. 3047  
Email. [jif@uin.ac.id](mailto:jif@uin.ac.id)

**JURNAL ILMIAH FARMASI**  
(SCIENTIFIC JOURNAL OF PHARMACY)

**PIMPINAN UMUM/ PENANGGUNG JAWAB**  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

**WAKIL PIMPINAN UMUM/ WAKIL PENANGGUNG JAWAB**  
Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UII

***Editor in Chief***

Dr. apt. Arba P. Ramadani, M.Sc.

***Managing Editors***

apt. Annisa Fitria, M.Sc.

apt. Cynthia Astiti Putri, M.Si.

***Editorial Board***

apt. Pinus Jumaryatno, M.Phil, Ph.D.

Prof. Dr. Is Fatimah

Prof. Dr., apt. Abdul Rohman, M.Si.

Dr. rer. nat. Ronny Martien, M.Si. Prof.

Patrick A Ball

Dr. Hana Morissey

Prof. Muhammad Taher

Assoc. Prof. Che Suraya Zin

Assoc. Prof. Deny Susanty

Dr. Matthew Bertin

Dr. Mohammed Hada

Dr. Tommy Julianto

***Reviewers***

Dr. apt. Vitarani Dwi Ananda Ningrum

apt. Suci Hanifah, Ph.D.

Dr. apt. Farida Hayati, M.Si.

Dr. apt. Lutfi Chabib, M. Sc.

Dr. apt. Siti Zahliyatul Munawiroh

apt. Saepudin, PhD.

Dr. apt. Asih Triastuti, M. Pharm.

Dr. apt. Yandi Syukri, M.Si.

Dr. apt. Noor Fitri, M.Si.

Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M. Kes.

Dr. apt. Bangunawati Rahajeng, M. Si.

Dr. apt. Ilham Kuncahyo, M. Sc.

Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. Dr.

apt. Y. Lannie Hadisoewignyo, M.Si.

apt. Purwanto, M.Sc., Ph.D

Dr. Dwiarso Rubiyanto, M.Si.

**Penerbit**

Jurusan Farmasi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

**Alamat Penerbit**

Jurusan Farmasi FMIPA UII  
Jl. Kaliurang Km. 14,4 Yogyakarta 55584  
Telp. (0274) 896439 ext. 3047  
Email: jif@uii.ac.id  
<https://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>

## DAFTAR ISI

Susunan Redaksi	i
Daftar Isi	ii
Pengantar Dari Dewan Editor	iii
The relationship between sosiodemographic factors and public knowledge of herbal medicines in two districts in Sleman Regency <b>Dian Medisa, Hady Anshory, Putri Litapriani, Rezky Fajriyati M</b>	96-104
Acute toxicity test ethanol extract of kerehau leaf ( <i>Callicarpa longifolia</i> Lamk) using OECD 420 method <b>Aulia Nurfazri Istiqomah, Shintya Safitri, Elis Susilawati</b>	105-111
Confusion, difficulty concentrating, and slow response induced by ropinirole therapy in an elderly patient with secondary Parkinsonism: a case report <b>Emilia Sidharta, Ivon Sindu Wijaya, Hanny Cahyadi</b>	112-117
Assessment of physicochemical properties and comparison of the dissolution profile of amoxicillin caplets <b>Een Widiyasaki, Teuku Nanda Saifullah Sulaiman</b>	118-129
Stability studies of mefenamic acid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEEDS) preparation with oleic acid as the oil phase <b>Yandi Syukri, Septiani Eka Cahyani, Bambang Hernawan Nugroho</b>	130-143
Solid dispersion of quercetin-PVP K-30 and its effects on the antioxidant activity <b>Zahara Gayo, Henny Lucida, Erizal Zaini</b>	144-154
Selenium species in vegetables: benefits and toxicity for the body <b>Alya Luthfiyani Heryadi, Ayu Shalihah, Rimadani Pratiwi, Mutakin Mutakin</b>	155-166
JPH203 as a potential L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT 1) inhibitor in the development of cancer theragnostic compounds.) <b>Yolanda Pertiwi, Driyanti Rahayu, Maula Eka Sriyani, Raden Bayu Indradi, Holis Abdul Holik</b>	167-181
Standardization parameters for cocoa pods ( <i>Theobroma cacao</i> L.) <b>Nida Isti Azah, Resmi Muchtarichie, Yoppi Iskandar</b>	182-195
Treatment pattern and direct medical costs of pediatric outpatients with acute respiratory infection at X hospital in Jambi <b>Hendri Pranata, Rasmaladewi Rasmaladewi, Mukhlis Sanuddin</b>	196-203

**PENGANTAR DEWAN  
EDITOR**

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah Ta'ala yang telah menganugerahkan kesempatan dan kekuatan, sehingga Jurnal Ilmiah Farmasi (JIF) Vol. 16 No. 2 Tahun 2020 dapat diterbitkan. Pada edisi ini dimuat tujuh artikel pada kelompok Farmasi Sains dan tiga artikel dari kelompok klinis. Artikel yang disajikan pada kelompok Farmasi Klinis mengulas tentang topik efektivitas terapi pada pasien di rumah sakit. Sedangkan artikel pada kelompok Farmasi Sains diantaranya mengetengahkan topik formulasi sediaan obat dari bahan alam.

Besar harapan kami semua artikel yang disajikan dalam edisi ini dapat memberikan manfaat dan menambah wawasan pembaca mengenai perkembangan penelitian dan wacana di bidang farmasi dan kesehatan. Saran dan kritik membangun dari pembaca kami harapkan. Begitu pula, kami mengundang pembaca untuk berpartisipasi mengirimkan artikel untuk dimuat dalam jurnal ini. Bagi pembaca yang berminat, dapat mencermati aturan pengiriman artikel yang sudah ditetapkan dan segera mengirimkannya ke alamat redaksi.

Akhirnya, kami ucapkan selamat membaca dan selamat mencermati, dan tak lupa kami mohon maaf apabila terdapat kesalahan dan kelalaian dalam penerbitan edisi ini.

Yogyakarta, Desember2020

**Dewan Editor**

## The relationship between sociodemographic factors and public knowledge of herbal medicines in two districts in Sleman Regency

### Hubungan faktor sosiodemografi dengan tingkat pengetahuan masyarakat tentang obat herbal di dua kecamatan Kabupaten Sleman

Dian Medisa\*, Hady Anshory, Putri Litapriani, Rezky Fajriyati M

Department of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

\*Corresponding author: [dianmedisa@uui.ac.id](mailto:dianmedisa@uui.ac.id)

---

#### Abstract

**Introduction:** The use of herbal medicines in the community is on the increase in both developing and advanced countries. Most people use herbal medicines through generations or based on experience. Therefore, it is necessary to analyse public knowledge of herbal medicine to support the appropriate and proper use of herbal medicines.

**Objectives:** To determine the relationship between sociodemographic characteristics and the level of public knowledge of herbal medicines in two districts in Sleman Regency.

**Methods:** Survey research was conducted for the people of Minggir and Cangkringan Districts, Sleman Regency. A sample of 240 respondents was taken through the cluster sampling method, and data was collected through a validated questionnaire. Respondents who scored higher than the mean were grouped into good knowledge, whereas those with less than or equal to the mean were in the category of poor knowledge. Data was analysed using the chi-square test.

**Results:** The majority of respondents were women (61.2%) mostly aged 26-45 years (46.7%). The highest percentage of knowledge was in the domain of the side effects of herbal medicines (78.3%), while the lowest knowledge was about how to use herbal medicines (32.1%). Exactly 55% respondents had good knowledge of all the domains about herbal medicines. The results of bivariate analysis showed that sociodemographic factors were insignificantly correlated with respondents' level of knowledge of herbal medicines ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** There was no correlation between sociodemographic characteristics and knowledge of herbal medicines. Knowledge of herbal medicines can be increased by providing an education program based on the needs and conditions of the sociodemographic society.

**Keyword:** knowledge, herbal medicine, Sleman regency

#### Intisari

**Latar Belakang:** Penggunaan obat herbal (OH) di masyarakat semakin meningkat, baik di negara berkembang maupun negara maju. Sebagian besar masyarakat menggunakan obat herbal secara turun temurun atau berdasarkan pengalaman. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis terhadap pengetahuan masyarakat tentang obat herbal untuk mendukung penggunaan obat herbal dengan tepat dan benar.

**Tujuan:** Untuk mengetahui hubungan sosiodemografi dengan tingkat pengetahuan masyarakat tentang obat herbal pada dua kecamatan di Kabupaten Sleman.

**Metode:** Penelitian survey yang dilakukan pada masyarakat Kecamatan Minggir dan Cangkringan, Kabupaten Sleman. Pengambilan sampel sebanyak 240 responden dilakukan dengan metode *cluster sampling*. Data diperoleh dari pembagian kuesioner yang telah tervalidasi. Responden yang memiliki skor di atas nilai rata-

rata termasuk dalam kategori berpengetahuan baik, sedangkan jika dibawah atau sama dengan rata-rata termasuk kategori berpengetahuan buruk. Data dianalisis menggunakan *uji chi-square*.

**Hasil:** Mayoritas responden adalah wanita (61,2%) dan usia paling banyak 26-45 tahun (46,7%). Persentase pengetahuan yang paling baik yaitu pada domain efek samping obat herbal (78,3%), sedangkan pengetahuan yang terendah tentang cara penggunaan obat herbal (32,1%). Lima puluh lima persen responden memiliki pengetahuan yang baik tentang obat herbal secara keseluruhan. Hasil analisis bivariat menunjukkan faktor sosiodemografi tidak berhubungan secara signifikan dengan tingkat pengetahuan responden tentang obat herbal ( $p < 0,05$ ).

**Kesimpulan:** Faktor sosiodemografi tidak berhubungan dengan tingkat pengetahuan tentang obat herbal. Pengetahuan tentang obat herbal dapat ditingkatkan melalui pemberian edukasi yang sesuai dengan kebutuhan dan kondisi sosiodemografi masyarakat.

**Kata kunci:** pengetahuan, obat tradisional, Kabupaten Sleman

---

## 1. Latar Belakang

Obat tradisional merupakan suatu bahan yang berasal dari bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang biasanya digunakan secara turun temurun untuk pengobatan, pencegahan penyakit, maupun pemeliharaan kesehatan (Kemenkes, 2017; Moreira *et al.*, 2014). Saat ini penggunaan obat tradisional semakin meningkat baik di negara berkembang maupun negara maju. Masing-masing negara atau daerah memiliki kebiasaan yang berbeda-beda dalam penggunaan obat tradisional karena dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti budaya, sejarah, dan sikap individu. Obat tradisional yang paling banyak digunakan di seluruh dunia adalah obat herbal atau obat yang berasal dari tumbuhan (Seyyedrassoli *et al.*, 2017; Temitayo *et al.*, 2017). Di Indonesia, sebanyak 59,12% penduduk berusia di atas 15 tahun menggunakan jamu dan 30,40% rumah tangga memanfaatkan pelayanan kesehatan tradisional (Kemenkes, 2013). Sebagian masyarakat menggunakan obat herbal tidak hanya untuk terapi tunggal tetapi dikombinasikan dengan terapi modern. Masyarakat meyakini bahwa obat herbal lebih aman, murah dan lebih manjur dibandingkan dengan obat modern, meskipun data ilmiah terkait keamanan dan efektifitas obat herbal belum cukup memadai. Masyarakat menggunakan obat herbal dalam bentuk ramuan dari bahan alam asli maupun produk jadi seperti suplemen (Belachew *et al.*, 2017; Destiani & Suwantika, 2015; Gitawati & Handayani, 2008). Banyaknya penggunaan obat tradisional terutama obat herbal di masyarakat didukung oleh pemerintah dengan penyelenggaraan program pengembangan dan pemanfaatan tanaman obat keluarga (TOGA) sebagai upaya meningkatkan kemandirian masyarakat dalam mengatasi permasalahan kesehatan (Maryani & Kusumawati, 2008). Dengan pemanfaatan obat herbal secara mandiri, maka masyarakat harus memiliki pengetahuan yang baik tentang obat herbal agar dapat menggunakannya dengan tepat sesuai kebutuhan.

Di Indonesia, penelitian tentang pengetahuan obat tradisional atau obat herbal masih sangat

terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian terkait pengetahuan obat herbal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat pengetahuan masyarakat tentang obat tradisional di wilayah Kabupaten Sleman dan hubungan sosiodemografi dengan pengetahuan.

## **2. Metode Penelitian**

### *a. Rancangan Penelitian*

Penelitian ini merupakan penelitian survey dengan rancangan cross-sectional di Kecamatan Minggir dan Cangkringan, Kabupaten Sleman pada Juni-Juli 2018. Penelitian ini telah mendapatkan ijin dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada dengan nomor KE/FK/0574/EC/2018.

### *b. Sampel Penelitian*

Jumlah sampel penelitian sebanyak 240 responden yang dipilih dengan metode *cluster sampling*. Responden yang digunakan harus memenuhi kriteria inklusi yaitu, masyarakat berusia 18-65 tahun, pernah atau sedang mengkonsumsi obat herbal dan bersedia menjadi responden. Responden dieksklusikan jika tidak mengisi kuesioner dengan lengkap dan jelas.

### *c. Instrumen Penelitian*

Kuesioner terdiri dari dua bagian yaitu bagian satu tentang sosiodemografi dan bagian dua tentang pengetahuan. Informasi sosiodemografi meliputi jenis kelamin, usia, pendidikan terakhir, pekerjaan, dan penghasilan. Bagian pengetahuan obat herbal meliputi pengertian dan logo (3 pertanyaan), khasiat atau indikasi (7 pertanyaan), cara penggunaan (3 pertanyaan), dan efek samping obat (2 pertanyaan). Pilihan jawaban pada bagian pengetahuan obat herbal yaitu “benar” dan “salah”.

Kuesioner disusun oleh peneliti berdasarkan review literatur dan telah diuji validasi maupun reliabilitas. Tahap validasi terdiri dari validasi konten dan uji coba. Pada tahap validasi konten, kuesioner direview oleh ahli di bidang obat herbal. Dari hasil validasi tersebut, terdapat perbaikan tata bahasa pada beberapa pertanyaan agar lebih jelas dan mudah dipahami. Proses selanjutnya yaitu uji coba kuesioner kepada 30 orang warga masyarakat yang sesuai kriteria inklusi dan warga tersebut tidak termasuk dalam responden penelitian. Uji coba kuesioner dilakukan untuk memastikan bahwa kuesioner tersebut telah dapat mengukur pengetahuan warga tentang obat herbal sesuai dengan tujuan penelitian. Adapun uji reliabilitas menggunakan rumus Cronbach's Alpha, diperoleh nilai sebesar 0,701. Kuesioner dikatakan reliabel karena nilai Cronbach's Alpha > 0,60.

### *d. Pengumpulan Data*

Peneliti meminta persetujuan kepada responden untuk mengisi kuesioner. Persetujuan dituliskan dalam *inform consent*. Responden mengisi kuesioner secara mandiri dengan didampingi oleh fasilitator.

#### *e. Analisis Data*

Jika responden menjawab dengan tepat mendapat skor=1, sebaliknya jika menjawab tidak tepat mendapat skor=0. Tingkat pengetahuan dibagi menjadi 2 kategori, yaitu baik dan buruk. Responden yang memiliki skor di atas nilai rata-rata termasuk kategori baik, sedangkan responden yang memiliki skor di bawah atau sama dengan nilai rata-rata termasuk kategori buruk. Analisis univariat untuk menghitung persentase sosiodemografi dan tingkat pengetahuan responden, sedangkan analisis bivariat (*chi-square*) untuk menganalisis hubungan faktor sosiodemografi dengan tingkat pengetahuan tentang obat herbal.

### **3. Hasil dan pembahasan**

Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui tingkat pengetahuan masyarakat tentang obat herbal. Jumlah sampel yang diteliti sebanyak 240 responden. Adapun responden adalah warga yang berdomisili di wilayah Kecamatan Minggir dan Cangkringan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Seluruh responden dalam penelitian ini merupakan perwakilan dari tiap keluarga dan sudah pernah atau sedang menggunakan obat herbal. Profil karakteristik sosiodemografi responden tercantum dalam Tabel 1. Mayoritas responden adalah wanita (61,2%), sedangkan pria (38,8%). Hasil tersebut sejalan dengan pekerjaan yang didominasi oleh ibu rumah tangga (41,7%). Usia responden yang paling banyak yaitu 26-45 (46,7%) dan sebagian besar memiliki pendidikan SMA sampai perguruan tinggi (58,3%).

Pengetahuan masyarakat tentang obat herbal perlu diteliti karena penggunaan obat herbal di masyarakat semakin meningkat, meskipun masih terdapat beberapa obat herbal yang belum terbukti aman dan efektif. Sebagian besar masyarakat menggunakan obat herbal berdasarkan pengetahuan, pengalaman, dan ketrampilan secara turun temurun. Dengan demikian, perlu dilakukan pengukuran terhadap pengetahuan masyarakat agar pemilihan maupun penggunaan obat herbal dapat dilakukan dengan tepat, sehingga terhindar dari efek yang berbahaya bagi tubuh (Gitawati & Handayani, 2008; Moreira *et al.*, 2014; Ningsih, 2016).

Pengetahuan diukur menggunakan kuesioner yang diberikan secara langsung kepada responden. Hasil tingkat pengetahuan obat herbal berdasarkan tiap domain pertanyaan tercantum dalam Tabel 2. Responden memiliki pengetahuan yang paling baik tentang efek samping obat herbal (78,3%), sedangkan pengetahuan yang paling kurang yaitu cara penggunaan obat herbal (32,1%).



Sebagian besar responden juga telah mengetahui pengertian (51,2%) dan khasiat (63,3%) dari beberapa obat herbal. Selain itu, terdapat responden yang belum mengetahui bahwa logo obat herbal terbagi menjadi 3, yaitu logo jamu, logo obat herbal tersandar, dan logo fitofarmaka. Logo obat herbal penting untuk diketahui oleh masyarakat agar dapat memilih obat dengan tepat dan sesuai dengan kebutuhan.

**Tabel 1.** Karakteristik sosiodemografi responden

Karakteristik Sosiodemografi		n (%)
Jenis kelamin	Pria	93 (38,8)
	Wanita	147 (61,2)
Usia	18-25	19 (7,9)
	26-45	112 (46,7)
	46-65	109 (45,4)
Pekerjaan	Pelajar	8 (3,3)
	IRT	100 (41,7)
	Petani	53 (22,1)
	guru	3 (1,3)
	lain-lain	76 (31,7)
Pendidikan terakhir	≤SD	41 (17,1)
	SMP	59 (24,6)
	≥SMA	140 (58,3)
Pendapatan	<1000000	172 (71,7)
	1000000 - 1500000	47 (19,6)
	>1500000	21 (8,7)

Keterangan : Jumlah responden =240 orang

Terdapat bermacam-macam obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi berbagai kondisi kesehatan, seperti diare, sakit tenggorokan, sakit gigi, diabetes, hipertensi, kanker, obesitas, dan lain-lain (Kemenkes, 2017; Wassie *et al.*, 2015). Oleh karena itu, masyarakat harus mengetahui khasiat obat herbal yang digunakan agar mendapatkan efek yang optimal. Pada domain khasiat obat herbal, diketahui persentase responden yang telah mengetahui khasiat jahe (99,6%), bawang putih (79,6%), dan kunyit (53,3%). Sebanyak 47,1% responden menganggap bahwa obat herbal lebih efektif untuk mengatasi penyakit kronis, dan obat herbal memiliki khasiat yang sama dengan obat modern (32,9%).

Pada domain cara penggunaan obat herbal, mayoritas responden (89,2%) telah mengetahui bahwa obat herbal tidak diminum bersamaan dengan obat modern. Namun, masih banyak responden (46,7%) yang belum mengetahui bahwa sebaiknya obat herbal tidak dikonsumsi setiap hari, serta aturan penggunaan kunyit pada masa kehamilan. Kunyit diyakini keamanannya jika digunakan pada trimester kedua dan ketiga, karena sampai saat ini belum ada bukti klinis yang menunjukkan bahwa konsumsi kunyit dapat menyebabkan kelahiran prematur. Meskipun demikian, wanita hamil

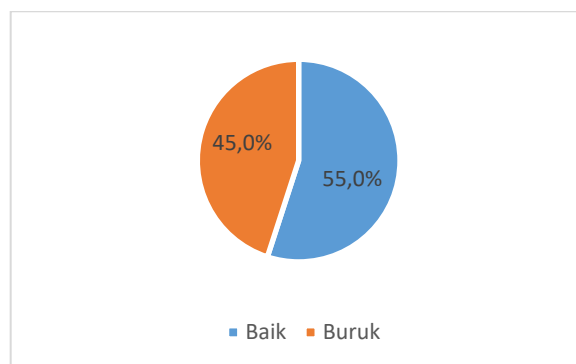
seharusnya menghentikan penggunaan kunyit satu minggu sebelum hari perkiraan lahir (Akram *et al.*, 2010; Jaafari *et al.*, 2016). Penggunaan obat herbal oleh masyarakat termasuk wanita hamil, masih banyak dilakukan. Oleh karena itu, perlu dipastikan bahwa masyarakat telah mengetahui cara penggunaan obat herbal dengan benar.

**Tabel 2.** Tingkat pengetahuan responden tentang obat herbal berdasarkan tiap domain pertanyaan

Domain	Skor Rata-rata $\pm$ SD	Pengetahuan n (%)	
		Baik	Buruk
Pengertian dan logo OH	1,9 $\pm$ 0,9	123 (51,2)	117 (48,8)
Khasiat OH	3,9 $\pm$ 1,1	152 (63,3)	88 (36,7)
Cara penggunaan OH	2 $\pm$ 0,8	77 (32,1)	163 (67,9)
Efek samping OH	0,9 $\pm$ 0,6	188 (78,3)	52 (21,7)

Keterangan : Jumlah total responden = 240 orang

Responden yang memiliki tingkat pengetahuan tentang obat herbal dalam kategori baik sebesar 55%. Pada penelitian sebelumnya, juga menunjukkan hasil serupa yaitu 67,7% responden memiliki tingkat pengetahuan yang baik tentang obat herbal (Oktarlina *et al.*, 2018). Tingkat pengetahuan tentang obat herbal akan mempengaruhi sikap dan perilaku penggunaan obat herbal. Semakin tinggi pengetahuan, maka semakin tinggi frekuensi penggunaan obat herbal (Asmelashe *et al.*, 2017; Seyyeddrassoli *et al.*, 2017). Pengetahuan masyarakat tentang obat herbal dapat ditingkatkan dengan pemberian edukasi oleh tenaga kesehatan.



**Gambar 1.** Tingkat pengetahuan responden tentang obat herbal berdasarkan seluruh domain

Tabel 3. menunjukkan bahwa responden pria (57,0%) memiliki tingkat pengetahuan tentang obat herbal yang sedikit lebih baik dibandingkan dengan wanita (53,7%). Hal ini dapat disebabkan karena mayoritas responden laki-laki berpendidikan  $\geq$  SMA. Kategori responden dengan tingkat pendidikan  $\geq$  SMA memiliki persentase tingkat pengetahuan obat herbal yang lebih baik (55,7%)

dibandingkan responden dengan tingkat pendidikan < SMA (54,0%). Seseorang yang memiliki tingkat pendidikan lebih tinggi cenderung lebih banyak mencari informasi informal secara mandiri (Alyahia *et al.*, 2017).

**Tabel 3.** Hubungan sosiodemografi dengan tingkat pengetahuan masyarakat tentang obat herbal

Karakteristik Sosiodemografi		Tingkat Pengetahuan		P-value
		Baik	Buruk	
		n (%)	n (%)	
Jenis kelamin	Pria	53 (57,0)	40 (43,0)	0.552
	Wanita	79 (53,7)	68 (46,3)	
Usia	≤ 45 tahun	73 (55,7)	58 (44,3)	0.897
	> 45 tahun	59 (54,1)	50 (45,9)	
Pekerjaan	Bekerja	72 (54,5)	60 (45,5)	0.990
	Tidak bekerja	60 (55,6)	48 (44,4)	
Pendidikan terakhir	< SMA	54 (54,0)	46 (46,0)	0.677
	≥ SMA	78 (55,7)	62 (44,3)	
Pendapatan	≤1,5 juta	121 (55,3)	98 (44,7)	0,502
	<1,5 juta	10 (47,6)	11 (52,4)	

Keterangan : signifikansi (*chi-square*) =  $p < 0,05$

Hasil analisis biavariat menunjukkan tingkat pengetahuan tentang obat herbal tidak berhubungan secara signifikan dengan karakteristik sosiodemografi, meliputi jenis kelamin, usia, pekerjaan, pendidikan, dan pendapatan ( $p < 0,05$ ). Pada penelitian di Penang dan Merawi Town, tercantum bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara sosiodemografi (usia, pendidikan, dan pendapatan) dengan pengetahuan dan penggunaan obat herbal (Rahman *et al.*, 2009; Wassie *et al.*, 2015). Sebaliknya, penelitian di Iran menunjukkan hasil yang berbeda, yaitu terdapat hubungan secara signifikan antara faktor sosiodemografi (usia, pendidikan, pekerjaan, dan pendapatan) dengan tingkat pengetahuan (Seyyedraassoli *et al.*, 2017). Pendidikan tidak berhubungan dengan tingkat pengetahuan secara signifikan, hal ini kemungkinan karena informasi tentang obat herbal dapat diperoleh dari berbagai sumber informasi seperti TV, internet, buku, keluarga, ataupun tenaga kesehatan, tidak hanya dari pendidikan formal (Djabbar *et al.*, 2017; El-Olemy *et al.*, 2017).

#### 4. Kesimpulan

Responden yang memiliki tingkat pengetahuan kategori baik sebanyak 55,0%, sedangkan responden memiliki tingkat pengetahuan buruk 45,0%. Faktor sosiodemografi tidak berhubungan secara signifikan dengan tingkat pengetahuan tentang obat herbal. Pengetahuan tentang obat herbal dapat ditingkatkan melalui pemberian edukasi yang sesuai dengan kebutuhan dan kondisi sosiodemografi masyarakat.

### Daftar pustaka

- Akram, M., Afzal, A., Khan, U., Abdul, H., Mohiuddin, E., & Asif, M. (2010). Curcuma longa and Curcumin: A review article. *Rom. J. Biol-Plant Biol.*, 55, 65-70.
- Alyahia, O., Al-Bedah, A., Al-Dossari, D., Salem, S., & Qureshi, N. (2017). Prevalence and Public Knowledge, Attitude and Practice of Traditional Medicine in Al-Aziziah, Riyadh, Saudi Arabia. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 20, 1-14. doi:10.9734/BJMMR/2017/32749
- Asmelashe, D., Mekonnen, G., Atnafe, S., Birarra, M., & Belay, A. (2017). Herbal Medicines: Personal Use, Knowledge, Attitude, Dispensing Practice, and the Barriers among Community Pharmacists in Gondar, Northwest Ethiopia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 7. doi:10.1155/2017/6480142
- Belachew, N., Tadesse, T., & Gube, A. A. (2017). Knowledge, Attitude, and Practice of Complementary and Alternative Medicine Among Residents of Wayu Town, Western Ethiopia. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 22(4), 929-935. doi:10.1177/2515690X17746547
- Destiani, D., & Suwantika, A. (2015). The Use of Herbal Supplements as One of Self Medications in Bandung. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 4, 71-76. doi:10.15416/ijcp.2015.4.1.71
- Djabbar, A., Musdalipah, M., & Nurwati, A. (2017). Studi Pengetahuan, Sikap dan Tindakan Terhadap Penggunaan Obat Tradisional Bagi Masyarakat di Desa Sabi-Sabila Kecamatan Mowewe Kabupaten Kolaka Timur. *Pharmauho*, 3(1).
- El-Olemy, A. T., Radwan, N. M., Dawoud, W. M., Zayed, H. A., Ali, E. A., Elsabbagh, H., Al-Dossari, D. S., Salem, S. O., & Qureshi, N. A. (2017). Medical Students' Knowledge, Attitude and Practice towards Traditional and Complementary Medicine, Tanta City, Gharbiyah Governorate, Egypt. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research*, 3(1).
- Gitawati, R., & Handayani, R. S. (2008). Profil konsumen obat tradisional terhadap ketanggapan akan adanya efek samping obat tradisional. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 11(3), 6. doi:doi:10.22435/bpsk.v11i3 Jul.1876
- Jaafari, M., Fotoohi, A., Razavi, N., & Abdian, A. A. (2016). Herbal medicine in pregnancy. *Advanced Herbal Medicine*, 2(1), 13.
- Kemenkes. (2013). *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Kemenkes. (2017). *Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Maryani, H., & Kusumawati, L. (2008). Upaya peningkatan pengetahuan tentang obat tradisional dan pemanfaatannya melalui pelatihan pada usila. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 11(4), 5.
- Moreira, D. D. L., Teixeira, S. S., Monteiro, M. H., De-Oliveira, A. C. A. X., & Paumgartten, F. J. R. (2014). Traditional use and safety of herbal medicines. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 24, 10.
- Ningsih, I. Y. (2016). Studi Etnofarmasi Penggunaan Tumbuhan Obat Oleh Suku Tengger Di Kabupaten Lumajang Dan Malang, Jawa Timur. *Pharmacy*, 13(1).
- Oktarlina, R. Z., Tarigan, A., Carolia, N., & Utami, E. R. (2018). Hubungan Pengetahuan Keluarga dengan Penggunaan Obat Tradisional di Desa Nunggalrejo Kecamatan Punggur Kabupaten Lampung Tengah. *JK Unila*, 2(1), 5.

- Rahman, A. A., Sulaiman, S. A., Ahmad, Z., Salleh, H., Daud, W. N., & Hamid, A. M. (2009). Women's attitude and sociodemographic characteristics influencing usage of herbal medicines during pregnancy in Tumpat District, Kelantan. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 40(2), 330-337.
- Seyyeddrassoli, A., Ghahramanian, A., & Rahimlou, Z. (2017). The Relationship Between Knowledge and Attitude of Patients with Chronic Diseases Regarding Complementary Medicine. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 19.
- Temitayo, O., Sariem, C., Dafam, D., O, O., Okwori, V., N, O., & O, J. (2017). Knowledge, Attitude and Practice of Traditional Medicine Among People of Jos North Local Government Area of Plateau State, Nigeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9. doi:10.25258/phyto.v9i10.10460
- Wassie, S., Aragie, L., Taye, B., & Mekonnen, L. (2015). Knowledge, Attitude, and Utilization of Traditional Medicine among the Communities of Merawi Town, Northwest Ethiopia: A Cross-Sectional Study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-7. doi:10.1155/2015/138073

## Acute toxicity test ethanol extract of kerehau leaf (*Callicarpa longifolia* Lamk) using OECD 420 method

### Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk) dengan metode OECD 420

Aulia Nurfazri, Shintya Safitri, Elis Susilawati\*

Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Jawa Barat, Indonesia

\*Corresponding author: [elis.susilawati@bku.ac.id](mailto:elis.susilawati@bku.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** Kerehau is empirically used as cooling powder to treat acne. Based on previous research, kerehau leaves have a number of activities, including wound healing, antidiabetic, and anti-inflammatory.

**Objectives:** This study aimed to determine the safety level of a single dose of ethanol extract of kerehau leaves within a 24-hour administration period.

**Methods:** Acute toxicity testing of ethanol extract of kerehau leaves was carried out on female Webster mice. Test animals were divided into 4 treatment groups, consisting of 1 control group and 3 test groups. The testing method referred to OECD (Organization of Economic Cooperation and Development) 420 with modified doses of 2000mg/kgBW, 5000 mg/kgBW, and 8000 mg/kgBW. The observations were made on the behaviour of animals towards toxicity symptoms for 4 hours after administration of the test substance as well as death. The death and weight gain were observed for 14 days. On the 15th day, animals were sacrificed, blood was taken, and biochemical parameters were measured. The heart, kidneys, liver, spleen, and lungs were harvested and weighed. Data was analysed using Oneway ANOVA continued with LSD and Post Hoc.

**Results:** The results showed that ethanol extract of kerehau leaves did not cause death in all of the groups. There were significant differences in liver weight, SGPT, and SGOT levels ( $p < 0.05$ ) at the dose of 5000 mg/kgBW. No toxicity symptoms and death were found until the end of the experiment.

**Conclusion:** LD<sub>50</sub> value of ethanol extract of kerehau leaves was above 8000 mg/kgBW with heart as the most affected organ.

**Keywords:** Ethanol extract of kerehau leaves, acute toxicity test, OECD 420.

#### Intisari

**Latar Belakang:** Tanaman kerehau secara empiris digunakan sebagai bedak dingin untuk menghilangkan jerawat. Berdasarkan penelitian sebelumnya daun kerehau memiliki beberapa aktivitas sebagai penyembuh luka, antidiabetes dan antiinflamasi.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat keamanan dosis tunggal ekstrak etanol daun kerehau dalam jangka waktu pemberian 24 jam.

**Metode :** Pengujian toksisitas akut ekstrak etanol daun kerehau dilakukan terhadap mencit Webster betina. Hewan uji dikelompokkan menjadi 4 kelompok perlakuan, yang terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok uji. Metode pengujian dilakukan merujuk pada OECD (Organization of Economic Cooperation and Development) 420 dengan modifikasi dosis yaitu 2000mg/kgBB, 5000 mg/kgBB dan 8000 mg/kgBB. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan perilaku hewan uji terhadap gejala toksik selama 4 jam setelah pemberian sediaan uji, serta adanya kematian. Kematian dan peningkatan berat badan diamati selama 14 hari. Pada hari ke-15 hewan dikorbankan dan dilakukan pengambilan darah dan diukur parameter biokimianya. Organ jantung, ginjal, hati, limpa dan paru-paru diambil dan

ditimbang. Analisis data menggunakan Oneway ANOVA dilanjutkan dengan LSD dan Post Hoc.

**Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kerehau tidak menimbulkan kematian pada semua kelompok pengujian. Terdapat perbedaan bermakna terhadap berat organ hati, kadar SGPT dan SGOT ( $p < 0,05$ ) pada dosis 5000 mg/kgBB. Tidak terjadi gejala toksik dan kematian hingga akhir pengujian.

**Kesimpulan:** Nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol daun kerehau di atas dosis 8000 mg/kgBB dengan organ sasaran yang dipengaruhi yakni hati.

**Kata kunci:** Ekstrak etanol daun kerehau, uji toksisitas akut, OECD 420

---

## 1. Pendahuluan

Tanaman kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk) merupakan tanaman yang berasal dari Kalimantan Timur, berbentuk semak atau pohon kecil yang secara empiris dimanfaatkan sebagai bedak dingin untuk menghilangkan bekas jerawat, radang, obat diare dan obat masuk angin (Supomo *et al.*, 2016). Gel ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk) terbukti dapat menyembuhkan luka pada kelinci (Susilawati, Aligita, *et al.*, 2018). Ekstrak etanol daun kerehau dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hewan diabetes yang diinduksi makanan tinggi lemak dan berpengaruh pada kadar malondialdehid mencit yang diinduksi aloksan (Susilawati, Selifiana, *et al.*, 2018). Dengan beberapa hasil penelitian tersebut, uji toksisitas akut sangat perlu dilakukan untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa dalam waktu tertentu setelah pemberian dosis tunggal. Aspek toksikologi masih belum banyak diketahui dan dilakukan dari pemakaian bahan pangan maupun obat dari tanaman yang dikarenakan alasan penggunaan yang sudah turun menurun, sehingga harus mulai beralih ke penelitian toksikologi karena semakin banyaknya bahan-bahan natural yang dimanfaatkan untuk pengobatan (Lee *et al.*, 2003).

Penelitian uji toksisitas akut daun kerehau sebelumnya telah dilakukan dengan pengamatan perilaku aktivitas mencit secara umum (Siswanto *et al.*, 2017). Keterbaruan penelitian ini dengan menambahkan data pengukuran kadar SGPT, SGOT, kreatinin, indeks organ jantung, ginjal, hati, limpa dan paru-paru, sehingga organ sasaran ekstrak etanol daun kerehau dapat diketahui dengan jelas. Selain itu, pada penelitian ini juga dilakukannya modifikasi dosis dari penelitian sebelumnya.

## 2. Metode penelitian

### 2.1 Alat

Seperangkat alat gelas dan maserasi, *rotary evaporator*, seperangkat alat bedah hewan dan Microlab 300 (Elitech MRK®).

### 2.2 Bahan

Simplisia daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk) diperoleh dari desa Tumbang Lahang, Kalimantan Tengah, etanol 96% (Brataco®), Na-CMC, HCl, NaOH, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, eter, magnesium, pereaksi Lieberman-Bouchard, pereaksi Bouchardat, besi (III) klorida, asam asetat, metanol, etil asetat, akuades, serbuk Mg, NaCl, amil alkohol, reagen SGPT, SGOT dan kreatinin (Proline®).

### 2.3 Hewan uji

Mencit betina galur Swiss Webster betina (Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana) berumur 6-8 minggu dengan bobot berkisar 20-30 gram yang sehat dan memiliki aktivitas normal (Kode etik No.285/UN6.KEP/EC/2019).

### 2.4 Prosedur penelitian

#### 1.4.1 Pembuatan ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk)

Daun kerehau segar sebanyak 10 kg dicuci bersih dan dikeringkan didapat 2,8 kg simplisia kering, kemudian diserbuk menggunakan *chopper* lalu dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Peredaman dilakukan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan. Maserat dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator*.

#### 1.4.2 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi identifikasi alkaloid, saponin, tannin, terpenoid, kuinon dan flavonoid (Harborne *et al.*, 1996).

#### 1.4.3 Karakterisasi simplisia

Proses karakterisasi simplisia meliputi pengujian makroskopik, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol.

#### 1.4.4 Perlakuan hewan uji

Metode yang digunakan pada pengujian toksisitas akut ini diadaptasi dari pedoman pengujian toksisitas akut OECD 420 dimana hewan uji yang digunakan yaitu mencit putih betina galur Swiss Webster (OECD, 2001). Sebanyak 20 ekor mencit dengan bobot 20-30 gram selanjutnya diaklimatisasi selama 7 hari sebelum dilakukan pengujian. Kemudian mencit dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 5 ekor yang terdiri dari kelompok 1 kontrol negatif diberikan Na-CMC 1%, kelompok II diberikan ekstrak etanol daun kerehau dosis 2000 mg/kgBB, kelompok IV diberikan ekstrak etanol daun kerehau dosis 5000 mg/kgBB dan kelompok II diberikan ekstrak etanol daun kerehau dosis 8000 mg/kgBB. Pemberiaan sediaan uji dilakukan satu kali (dosis tunggal). Penelitian dilakukan selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan yaitu profil perubahan berat badan, indeks berat organ dan pemeriksaan biokimia menggunakan serum (kadar SGPT, SGOT dan kreatinin) (Al-Afifi *et al.*, 2018). Pada hari ke 14, semua hewan dikorbankan untuk mengetahui organ sasaran toksik yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol daun kerehau (EEDK). Hewan uji dikorbankan dengan cara dislokasi leher, kemudian organ hati, ginjal, jantung, limpa dan paru-paru dikeluarkan dengan cara menyayat bagian tengah perut



mencit (Al-Afifi *et al.*, 2018). Organ segar yang telah diisolasi, dibersihkan dari lemak yang menempel kemudian dicuci dengan larutan NaCl 0,9% sebelum ditimbang agar diperoleh berat organ yang tepat. Indeks berat organ dihitung dengan perhitungan Jothy *et al.*, 2011:

$$\text{Indeks organ} = (\text{berat organ} \times 100) / (\text{berat badan})$$

### 2.5 Analisis data

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) *One way* dan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*) dan analisis *Post Hoc* untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan antar kelompok uji (signifikansi: 95%).

## 3. Hasil dan pembahasan

Berdasarkan hasil ekstraksi dari serbuk kering daun kerehau 2,8 kg, menghasilkan rendemen sebesar 14,16%. Karakterisasi simplisia dilakukan untuk mengetahui kualitas dan mutu dari simplisia yang digunakan dengan hasil karakterisasi dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil karakterisasi simplisia daun kerehau

Jenis karakterisasi	Hasil (%)
Kadar sari larut air	15,2
Kadar sari larut etanol	17,92
Kadar abu total	6,75
Kadar abu larut tidak asam	0,75
Susut pengeringan	8,19

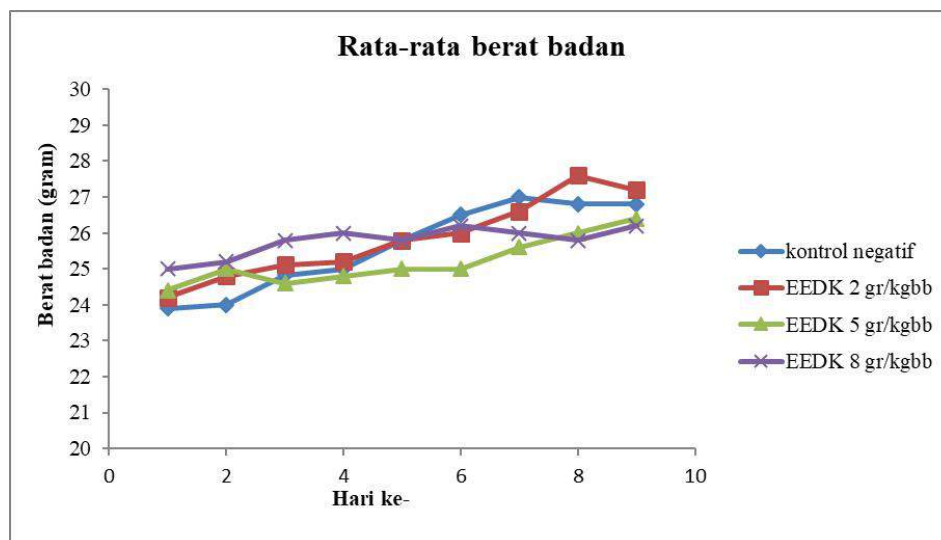
Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol daun kerehau. Hal ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dan untuk memastikan kembali bahwa selama proses penguapan pelarut tidak ada senyawa yang hilang atau ikut menguap. Hasil skrining fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak etanol daun kerehau dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil skrining fitokimia daun kerehau

No.	Metabolit sekunder	Hasil	
		Ekstrak	Simplisia
1.	Alkaloid	-	-
2.	Flavonoid	+	+
3.	Tanin	+	+
4.	Saponin	+	+
5.	Kuinon	+	+
6.	Steroid/triterpenoid	+	+

Berdasarkan Gambar 1, tidak terjadi penurunan berat badan yang signifikan. Penurunan berat badan yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol dapat menjadi tanda adanya gejala toksik, penyakit atau pertanda kesehatan yang buruk. Perubahan berat badan merupakan indikator dari efek samping bahan kimia jika terjadi penurunan lebih dari 10 % berat badan awal (Jothy *et al.*, 2011). Selain itu, kehilangan berat badan lebih dari 20%

merupakan efek samping yang merugikan dan dianggap kritis dalam beberapa pedoman internasional (Al-Afifi *et al.*, 2018).



**Gambar 1.** Profil perubahan berat badan setelah pemberian ekstrak etanol daun Kerehau

Pada tabel 3 dapat dilihat bahwa perbedaan bermakna untuk berat organ antar kelompok perlakuan dengan kontrol negatif, hanya didapatkan pada organ hati ( $p < 0,05$ ). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa EEDK mempengaruhi organ hati, di mana indeks berat organ hati pada kelompok kontrol negatif lebih besar dibanding dengan kelompok uji. Hal ini dikaitkan dengan peran hati dalam aktivitas metabolik tubuh. Kerusakan organ hati diawali dengan terjadinya perubahan morfologi dan fisiologi sel hati yang mengalami cedera dengan peningkatan penyerapan air, kemudian menyebar hingga organel dan sitoplasma. Hal tersebut menyebabkan pembengkakan sel, ditandai dengan peningkatan volume dan ukuran sel (Zachary & McGavin, 2014).

Indeks organ hati, limpa dan paru-paru pada EEDK 2000 mg/kgBB lebih besar dibandingkan EEDK 5000mg/kgBB dan 8000 mg/kgBB walaupun tidak signifikan ( $p < 0,05$ ). Hal tersebut diduga terjadi karena adanya peningkatan berat badan yang cukup besar pada EEDK 2000 mg/kgBB. Pemberian dosis tersebut juga dapat meningkatkan nafsu makan yang berbanding lurus dengan peningkatan berat badan dan berat organ.

Hasil parameter biokimiawi pada serum ditunjukkan pada tabel 4. Peningkatan kadar SGPT menunjukkan disfungsi hepar sebagai akibat dari biosintesis enzim dan penurunan permeabilitas membran. Kerusakan hepar yang terjadi kemungkinan karena paparan langsung zat toksik pada saat proses detoksifikasi produk metabolit dan senyawa xenobiotik (Mandasari *et al.*, 2015). Berdasarkan analisis statistik Oneway ANOVA terhadap kadar SGPT dan SGOT, menunjukkan bahwa perbedaan bermakna antara seluruh kelompok perlakuan dengan kontrol negatif pada kadar SGPT ( $p < 0,05$ ). Adapun untuk SGOT, perbedaan bermakna hanya pada dosis 5000 mg/kgBB ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa EEDK diduga dapat menurunkan kadar

SGOT dan SGPT secara bersamaan pada dosis 5000 mg/kgBB yang dapat dijadikan sebagai hepatoprotektor.

**Tabel 3.** Indeks organ setelah pemberian ekstrak etanol daun kerehau

Kelompok	Indeks Organ (gram)				
	Jantung	Ginjal	Hati	Limpa	Paru-paru
Kontrol negatif	0,62±0,06	1,10±0,15	6,44±1,07	0,95±0,31	1,02±0,13
EEDK 2000mg/kgBB	0,56±0,08	1,10±0,06	5,76±0,57	1,31±0,57	1,04±0,14
EEDK 5000mg/kgBB	0,56±0,05	1,17±0,19	5,03±0,49*	0,91±0,25	0,96±0,97
EEDK 8000mg/kgBB	0,58±0,13	0,96±0,11	5,21±0,62*	0,86±0,28	0,87±0,09

Keterangan: \*Berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif ( $p < 0,05$ )

**Tabel 4.** Parameter biokimiawi darah setelah pemberian ekstrak etanol daun kerehau

Kelompok	SGPT (mg/dL)	SGOT (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)
Kontrol negatif	75,32±15,03	140,10±39,89	0,26±0,07
EEDK 2000mg/kgBB	42,60±12,36*	151,48±22,97	0,28±0,09
EEDK 5000mg/kgBB	39,56±28,38*	94,38±43,75*	0,33±0,13
EEDK 8000mg/kgBB	48,00±11,75*	105,06±14,43	0,33±0,07

Keterangan: \*Berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif ( $p < 0,05$ )

Gejala toksik tidak terjadi pada semua kelompok pengujian setelah pemberian sediaan uji. Hingga akhir pengujian, tidak terjadi kematian dan gejala toksik lainnya baik pada kelompok uji 2000 mg/kgBB, 5000 mg/kgBB, 8000mg/kgBB, maupun kontrol negatif. Berdasarkan pengamatan tersebut dapat dikatakan bahwa LD<sub>50</sub> EEDK di atas dosis 8000mg/kgbb.

#### 4. Kesimpulan

Nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol daun kerehau di atas dosis 8000 mg/kgBB dengan organ sasaran yang dipengaruhi yakni hati.

#### Ucapan terima kasih

Terimakasih kepada Lembaga Pusat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat dan Fakultas Farmasi Universitas Bhakti kencana yang telah membiayai dan memfasilitasi penelitian ini.

#### Daftar pustaka

- Al-Afifi, N. A., Alabsi, A. M., Bakri, M. M., & Ramanathan, A. (2018). Acute and sub-acute oral toxicity of *Dracaena cinnabari* resin methanol extract in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 50-50. doi:10.1186/s12906-018-2110-3
- Harborne, J. B., Sudiro, I., Padmawinata, K., & Niksolihin, S. (1996). *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan* (S. Niksolihin Ed.): Penerbit ITB.

- Jothy, S. L., Zakaria, Z., Chen, Y., Lau, Y. L., Latha, L. Y., & Sasidharan, S. (2011). Acute oral toxicity of methanolic seed extract of *Cassia fistula* in mice. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *16*(6), 5268-5282. doi:10.3390/molecules16065268
- Lee, J. E., Kim, H. j., Lee, C. H., Lee, K. C., Choi, E. K., Chai, H. Y., Yun, Y. W., Kim, D. J., Nam, S. Y., Lee, B. J., & Ahn, B. W. (2003). Four-week repeated-dose toxicity study on *Pinellia* Extract. *Korean J. Lab. Anim. Sci.*, *19*, 127-141.
- Mandasari, A. A., Wahyuningsih, S. P. A., & Darmanto, W. (2015). Uji toksisitas akut polisakarida krestin dari ekstrak *coriolus versicolor* dengan parameter kerusakan hepatosit, enzim SGPT dan SGOT pada mencit. *Jurnal Sain Veteriner*, *33*(1).
- OECD. (2001). Acute oral toxicity-fixed dose procedure. In (Vol. 420, pp. 14): OECD.
- Siswanto, E., Sari, D. N. I., & Supomo, S. (2017). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) terhadap mencit putih *Jurnal Ilmiah Manuntung*, *1*(2), 127-132.
- Supomo, S., Supriningrum, R., & Junaid, R. (2016). Karakterisasi dan dkrining fitokimia daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, *13*(2).
- Susilawati, E., Aligita, W., Adnyana, I. K., Hasimun, P., Sukmawati, I. K., & Anneesha, P. (2018). Activity of karehau (*Callicarpa longifolia* lamk.) leaves ethanolic extract as a wound healing. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *10*, 1243-1247.
- Susilawati, E., Selifiana, N., Aligita, W., Betharia, C., & Fionna, E. (2018). Aktivitas antidiabetes ekstrak eatnol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, *18*. doi:10.36465/jkbth.v18i2.398
- Zachary, J. F., & McGavin, M. D. (2014). *Pathologic basis of veterinary disease* (5th ed.). Missouri: Elsevier Mosby.

## **Confusion, difficulty concentrating, and slow response induced by ropinirole therapy in an elderly patient with secondary Parkinsonism: a case report**

Emilia Sidharta\*<sup>1</sup>, Ivon Sindu Wijaya<sup>1</sup>, Hanny Cahyadi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacy National Hospital, Surabaya

<sup>2</sup> Faculty of Pharmacy, University of Surabaya

\*Corresponding author: [sidhartaemilia@gmail.com](mailto:sidhartaemilia@gmail.com)

---

### **Abstract**

**Background:** Ropinirole is a therapy widely used in patients with Parkinson's disease or Restless Leg Syndrome (RLS). A number of research journals report on the long-term use of ropinirole causing side effects to patients. Unfortunately, there are no published studies from Indonesia that document the side effects of ropinirole, especially in elderly subjects.

**Case Presentation:** This case study reports a number of side effects, such as confusion, difficulty concentrating, and slow response, experienced by a 75-year-old elderly patient who consumed ropinirole 2 mg as a therapy for secondary Parkinsonism. Prior to using ropinirole, the patient had taken levodopa-benserazide, trihexyphenidyl, and pramipexole to overcome Parkinson's for more than 6 years during which no side effects occurred. Side effects appeared after ropinirole therapy was given to the patient, thereby strongly suggesting the administration of ropinirole as the underlying cause of such effects. The assessment methods involved time series data collection followed by causality analysis using the Naranjo Scale, resulting in a score of 6, or Probable. According to some literature, such side effects are probably triggered by the presence of neurotransmitter imbalance, one of which is due to the activation of dopaminergic receptors. Ropinirole is a dopamine agonist drug normally working on dopamine receptors, especially on D2-receptors. An excessive activation of dopaminergic receptors can lead to neuropsychiatric symptoms. In addition, the activation of D2-receptor causes an inhibition of acetylcholine synthesis, resulting in cholinergic deficiency that also becomes one of the triggers for neuropsychiatric symptoms.

**Conclusion:** The analysis using the Naranjo Scale shows a score of 6, indicating a probable association of confusion, difficulty concentrating, and slow response with ropinirole in this elderly patient with secondary Parkinsonism.

**Keywords:** side effect, secondary Parkinsonism, ropinirole, elderly, case report

---

### **1. Introduction**

Parkinson's is one of the most common neurodegenerative diseases in elderly patients (Willis, 2013). Discovered in 1960, Levodopa has since become the main therapy widely prescribed for Parkinson's patients. However, as the world of knowledge develops, a large number of other drugs begin to be used for Parkinson's as both primary therapy and adjunctive therapy, and one of them is in the dopamine agonist class.

In practice, dopamine agonists play an important role in Parkinson's therapy. Literature suggests that adding dopamine agonists to the regimen can reduce the symptoms of dyskinesia in

patients (Konta & Frank, 2008). In general, dopamine agonists are classified into two main groups: dopamine agonists with ergotic structure and dopamine agonists with non-ergotic structure.

Since its approval by the FDA in 1997 and Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) in 2012, ropinirole, a non-ergoline dopamine agonist drug, has been widely used as a treatment for Parkinson's and Restless Leg Syndrome (RLS). The effectiveness of ropinirole has been proven through various published studies, but the side effects were seldom reported.

Until this article was written, only two case reports documenting the side effects of ropinirole were found globally (Grover & Ghosh, 2010; Pal *et al.*, 2012) while there were no reports of such adverse events in Indonesia. Documentation and publication of the side effects of drugs are important to increase pharmacist's or other healthcare professional's awareness of patients with especially long-term use of drugs.

## **2. Methodology**

We report on a case of ropinirole side effects and describe the pharmacological background. The assessment methods used were time series data collection followed by causality analysis using the Naranjo Adverse Drug Probability Scale.

## **3. Case report**

Mr. U is a 75-year-old man diagnosed with Parkinson's since approximately three years ago. During this period, the patient was treated by Doctor F and prescribed the following drugs: trihexyphenidyl 2mg (3x daily 1 tablet), pramipexole 0.125mg (3x daily 1 tablet), and a combination of levodopa 100mg – benserazide 25mg (3x daily 1 tablet). While consuming the medicines, his Parkinson's symptoms were controlled, and he did not experience any side effects. Based on the medical history, the patient also had other diseases, including Benign Prostatic Hyperplasia (BPH) treated with mirabegron, tamsulosin, silodosin, and dutasteride. In addition, he also routinely used other drugs: candesartan 8mg (1x daily 1 tablet), coenzyme 100 (1x daily 1 tablet), bisoprolol 2.5mg (1x daily 1 tablet), and clopidogrel 75mg (1x daily 1 tablet). The only laboratory examination performed on the patient was serum creatinine carried out on November 22<sup>nd</sup>, 2017 and resulting in normal serum creatinine (1.1 mg/dL).

In September 2018, the patient came to other doctors (doctor B and doctor S) because he had such symptoms as tremors, limb rigidity, bradykinesia, postural instability, and retropulsion. After a number of examinations, both doctors gave the same diagnosis as the previous one, thereby allowing the patient to continue the treatment from Dr. F without any additional new regimen. In November 2018, the patient returned to Dr. F, and the diagnosis changed from Parkinson's disease

to secondary Parkinsonism, resulting in addition of ropinirole 2mg (1x daily 1 tablet) to the ongoing treatment.

In June 2019, the patient's family came to the pharmacy to report the discontinuation of ropinirole use as he developed some symptoms, including confusion, difficulty concentrating, and slow response. The patient then tried to take the medicine every 3 days and once a week, thereby resulting in reduction but persistence of symptoms which led to a stop of ropinirole consumption. Having received such report, the pharmacist then analyzed the possibility of side effects using the Naranjo Adverse Drug Probability Scale, thus obtaining a score of 6 which indicated Probable. The pharmacist then discussed with the doctor who eventually agreed to stop administering ropinirole.

#### **4. Discussion**

Parkinson's is a long-term degenerative disease of which the causes remain unknown but are believed to involve both genetic and environmental factors. Some literature stated that one of the suspected causes of Parkinson's is the loss of cells containing melanin in the substantia nigra located in the brain, leading to degenerative loss of neurons in the corpus striatum of mesencephalon. This structure also functions as a producer of neurotransmitters, including dopamine. Due to such cell disappearance, dopamine is not sufficiently produced in the brain, resulting in movement disorders that are commonly found in Parkinson's patients (Meder *et al.*, 2019).

In the case reported herein, a 75-year-old male patient had been diagnosed with Parkinson's for more than three years, which then developed into secondary Parkinsonism. Based on literature studies, patients with secondary parkinsonism have the same symptoms as those with Parkinson's disease, but the causes vary from drugs or exposure to hazardous chemicals to other diseases (Falvo & Holland, 2018). In this case, however, the cause of secondary Parkinsonism in the patient was not explicitly mentioned.

During the treatment for Parkinson's and secondary Parkinsonism, the patient was given a combination of trihexyphenidyl 2mg (3x daily 1 tablet), pramipexole 0.125mg (3x daily 1 tab), and levodopa 100mg-benserazide 25mg combination (3x daily 1 tab). The regimen has been used for more than three years during which the patient's condition was controlled and no drug side effects developed. When ropinirole 2 mg was added to the therapeutic regimen, however, the patient started experiencing side effects, such as confusion, difficulty concentrating, and slow response. Literature suggests that the side effects of these drugs may be categorized into neuropsychiatric symptoms. Neuropsychiatric is a term that refers to a variety of medical conditions involving neurology and psychiatry (Sachdev & Mohan, 2013). The hypothesis of drug side effects was strengthened through an analysis using the Naranjo Adverse Drug Probability Scale, which yielded a

score of 6 indicating Probable (Table 1). Probable means the reaction follows a reasonable temporal sequence after a drug, follows a recognized response to the suspected drug, is confirmed by withdrawal but not by exposure to the drug, and cannot be reasonably explained by the known characteristics of the patient's clinical state.

References suggest that neuropsychiatric side effects are likely to arise due to various factors. One approach that can be used in this case is through the mechanism of delirium. In this report, the patient experienced some symptoms similar to those found in delirium patients, but they were not necessarily identified as delirium. Further examination and analysis are required to diagnose delirium in patients.

Some of the mechanisms contributing to delirium include cholinergic deficiency, disruption in the synthesis of acetylcholine, or neurotransmitter imbalance (Hshieh *et al.*, 2008). Neurotransmitter imbalance involves acetylcholine, dopamine, or gamma aminobutyric acid (GABA) (Alagiakrishnan & Wiens, 2004). Some neurotransmitters in the brain such as dopamine, norepinephrine, and serotonin play a role in arousal and sleep-wake cycle as well as in mediating psychological responses to the presence of stimuli. Excessive stimulation of dopaminergic receptors results in decreased acetylcholine, thus leading to a variety of neuropsychiatric symptoms. This phenomenon occurs due to an overlap of the dopaminergic and cholinergic pathways in the brain, thereby suggesting a close relationship between acetylcholine and dopamine activities (Hshieh *et al.*, 2008).

Ropinirole is a group of dopamine agonist drugs that acts primarily on Dopamine D2 receptors. Activation of dopamine receptors decreases acetylcholine synthesis, triggering obstacles in the cholinergic pathway and resulting in neuropsychiatric symptoms found in the patient concerned. In addition, physiological changes in the body also play a role in the existence of neuropsychiatric symptoms. In elderly patients, the response to drugs can be influenced by the physiological changes due to aging. Some factors that can affect include increased body fat, decreased lean body mass and water, decreased albumin, and decreased Glomerular Filtration Rate (GFR) (Alagiakrishnan & Wiens, 2004).

Several other co-morbidities also affect the action of drugs in the elderly. For example, in patients with liver disorders, albumin synthesis usually decreases, thereby reducing protein binding and increasing the volume of distribution of some drugs. A decrease in kidney function also reduces drug elimination, which eventually increases the concentration of some drugs. Increased blood concentration of drugs can escalate drug effects thus triggering neuropsychiatric symptoms such as those found in delirium patients (Alagiakrishnan & Wiens, 2004). In this case, such reasons can also



affect the occurrence of side effects as mentioned in Naranjo Scale point 5. In addition, administration of other drugs and other diseases can contribute to the development of side effects. Therefore, further research is required to investigate the exact cause of the side effects experienced by the patient.

**Table 1.** Naranjo Adverse Drug Reaction Probability Scale

No.	Question	Yes	No	Don't Know	Score
1	Are there previous conclusive reports on this reaction?	+1	0	0	1
2	Did the adverse event appear after the suspected drug was administered?	+2	-1	0	2
3	Did the adverse reaction improve when the drug was discontinued or a specific antagonist was administered?	+1	0	0	1
4	Did the adverse reaction reappear when the drug was re-administered?	+2	-1	0	2
5	Are there alternative causes (other than the drug) that could solely have caused the reaction?	-1	+2	0	-1
6	Did the reaction reappear when a placebo was given?	-1	0	0	0
7	Was the drug detected in the blood (or other fluids) in a concentration known to be toxic?	+1	0	0	0
8	Was the reaction more severe when the dose was increased, or less severe when the dose was decreased?	+1	0	0	1
9	Did the patient have a similar reaction to the same or similar drugs in any previous exposure?	+1	0	0	0
10	Was the adverse event confirmed by objective evidence?	+1	0	0	0
<b>Total Score</b>					<b>6</b>

Interpretation of Scores:

Total score  $\leq 0$ : doubtful, total score 1-4: possible, total score 5-8: probable, total score  $>9$ : definite

The influence of neurotransmitter imbalance on neuropsychiatric symptoms can be strengthened by the presence of Serum Anticholinergic Activity (SAA) levels. However, in this study, laboratory tests have not been conducted to determine the quantitative levels of the neurotransmitters in the body. Therefore, it is recommended to perform a more in-depth examination related to SAA level to confirm the existence of these side effects due to the use of ropinirole.

## 5. Conclusion

Ropinirole causes various neuropsychiatric side effects, such as confusion, difficulty concentrating, and slow response. The monitoring of drug therapy needs to be performed by health professionals with regard to the use of Parkinson's drugs, especially in elderly patients. Changes in the physiological profile, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the body will influence the effects of drugs in the body. In addition, adjustment of individual doses according to each patient's characteristics is extremely essential.

## References

- Alagiakrishnan, K., & Wiens, C. A. (2004). An approach to drug induced delirium in the elderly. *Postgraduate medical journal*, 80(945), 388-393. doi:10.1136/pgmj.2003.017236
- Falvo, D. R., & Holland, B. E. (2018). *Medical and psychosocial aspects of chronic illness and disability*. Burlington: Jones and Bartlett Publishers.
- Grover, S., & Ghosh, A. (2010). A case of ropinirole-induced psychosis. *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry*, 12(6), PCC.10100987. doi:10.4088/PCC.10100987gre
- Hshieh, T. T., Fong, T. G., Marcantonio, E. R., & Inouye, S. K. (2008). Cholinergic deficiency hypothesis in delirium: a synthesis of current evidence. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 63(7), 764-772. doi:10.1093/gerona/63.7.764
- Konta, B., & Frank, W. (2008). The treatment of Parkinson's disease with dopamine agonists. *GMS health technology assessment*, 4, Doc05-Doc05. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21289911>
- Meder, D., Herz, D. M., Rowe, J., Lehericy, S., & Siebner, H. R. (2019). The role of dopamine in the brain-lesson learned from Parkinson's disease. *NeuroImage*, 190. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.11.021>
- Pal, K., Smith, A., Hayes, J., & Chakraborty, A. (2012). Othello syndrome secondary to ropinirole: a case study. *Case reports in psychiatry*, 2012, 353021-353021. doi:10.1155/2012/353021
- Sachdev, P. S., & Mohan, A. (2013). Neuropsychiatry: where are we and where do we go from here? *Mens sana monographs*, 11(1), 4-15. doi:10.4103/0973-1229.109282
- Willis, A. W. (2013). Parkinson disease in the elderly adult. *Missouri medicine*, 110(5), 406-410.

## Assessment of physicochemical properties and comparison of the dissolution profile of amoxicillin caplets

### Uji sifat fisika-kimia dan disolusi terbandingkan kaplet amoksisilin

Een Widiyasari<sup>1</sup>, Teuku Nanda Saifullah Sulaiman<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Program S-1 Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

<sup>2</sup> Laboratorium Teknologi Farmasi, Departemen Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

\*Corresponding author: [tn\\_saifullah@ugm.ac.id](mailto:tn_saifullah@ugm.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** Marketed drugs must meet the required standards to guarantee product quality. Amoxicillin is a generic compound marketed under various trademarks as copy drugs. Amoxicillin caplets are an immediate release dosage form of BCS class I. An essential aspect of evaluating copy drugs is to assess the equivalence for their treatment to the innovator drugs to ensure the safety and effectiveness of the circulating copy drugs.

**Objective:** The study aims to evaluate the physicochemical properties and compare the dissolution profile of amoxicillin caplets available in the market.

**Methods:** Five amoxicillin caplet products, four test products, and one reference product were tested for their physicochemical properties and dissolution. The dissolution test was carried out with a type II device at a speed of 75 rpm in 900 mL of media buffered at pH 1.2, 4.5, and 6.8 and at a temperature of  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . The dissolution profile was analyzed by comparing it with the similarity factor ( $f_2$ ) parameters.

**Results:** Two of the four amoxicillin caplet products had a similar dissolution profile to the reference products, namely products A and B.

Products C and D were dissimilar because  $f_2$  was  $\leq 50$  at pH 4.5. The caplets tested had almost the same dimensions, and all caplets met the requirements for uniformity of content, hardness, disintegration time, and dissolution.

**Conclusion:** Not all of the amoxicillin caplets in the market have a similar dissolution profile to the reference products.

**Keywords:** caplets, amoxicillin, dissolution, similarity factor

#### Intisari

**Latar belakang:** Sediaan obat yang dipasarkan harus memenuhi standar yang ditetapkan untuk menjamin kualitas produk. Amoksisilin merupakan senyawa generik, dipasarkan dengan berbagai merek dagang yang merupakan obat copy. Kaplet amoksisilin merupakan sediaan dengan pelepasan segera yang termasuk dalam BCS kelas I. Komponen penting dalam mengevaluasi obat *copy* yaitu menilai kesetaraan terapinya terhadap obat inovator sehingga dapat menjamin bahwa obat *copy* yang beredar aman dan efektif.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sifat fisika kimia dan uji disolusi terbandingkan sediaan kaplet amoksisilin yang beredar dipasaran.

**Metode:** Sebanyak 5 produk kaplet amoksisilin, 4 produk uji dan 1 produk pembanding diuji sifat

fisika kimia dan disolusinya. Uji disolusi dilakukan dengan alat tipe II dengan kecepatan 75 rpm dalam 900 mL media yang dibuffer pada pH 1,2; 4,5; dan 6,8 dan suhu  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Profil disolusi dianalisis dengan membandingkan profil disolusi dengan parameter *similarity factor* ( $f_2$ ).

**Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan 2 produk dari 4 produk kaplet amoksisilin memiliki kemiripan profil disolusi terhadap produk pembanding yaitu produk A dan B, sementara 2 produk yang lain tidak memiliki kemiripan karena nilai  $f_2 \leq 50$  pada pH 4,5 (produk C dan D). Kaplet yang diuji memiliki dimensi yang hampir sama, semua kaplet memenuhi persyaratan keseragaman sediaan, kekerasan, waktu hancur dan disolusi.

**Kesimpulan:** Kaplet amoksisilin yang beredar tidak semuanya memiliki kemiripan profil disolusi dibandingkan produk pembanding.

**Kata kunci :** kaplet, amoksisilin, disolusi, *similarity factor*

---

## 1. Pendahuluan

Produk obat bermerek dan produk obat generik memiliki zat aktif yang sama dengan inovatornya, hanya berbeda pada warna, bentuk, bahan tambahan, dan proses produksi yang khusus (Kesselheim *et al.*, 2010). Banyak orang menilai kualitas obat tergantung pada harganya. Obat yang sudah disetujui untuk diedarkan, seharusnya memiliki kualitas yang setara. Obat dengan harga murah memiliki kualitas yang setara dengan obat dengan harga mahal (Arafat *et al.*, 2017; Kesselheim *et al.*, 2008).

Komponen penting dalam mengevaluasi obat generik adalah dengan menilai kesetaraan terapi obat menggunakan studi komparatif dengan pembanding yang sesuai, seperti studi bioekivalensi *in vivo* atau disolusi *in vitro*. Studi bioekivalensi *in vivo* rumit dan mahal. Disolusi *in vitro* digunakan sebagai alternatif untuk obat-obat terpilih (Thambavita *et al.*, 2018).

Badan pengawas obat dan makanan berkewajiban melakukan pengawasan terhadap produk obat yang telah dipasarkan untuk memberikan jaminan kepada masyarakat bahwa produk obat telah memenuhi standar efikasi, keamanan dan mutu yang dibutuhkan. Untuk menjamin mutu obat *copy* yang beredar di Indonesia, perlu dilakukan uji bioekivalensi untuk membuktikan kesetaraannya terhadap produk inovatornya (BPOM, 2015). Dua produk obat dikatakan sama atau dua obat dapat diklaim bioekivalen, diasumsikan bahwa kedua obat akan memberikan efek terapi yang sama atau memiliki kesetaraan terapi (Chow, 2014).

*Biowaiver* perlu dilakukan untuk memperlihatkan bahwa obat dengan zat aktif dan bentuk sediaan yang sama memiliki kemiripan atau ekivalen antara produk yang satu dengan produk yang lain (Mhamunkar, 2013). Berdasarkan peraturan *World Health Organization* (WHO) mengenai *biowaiver*, obat yang termasuk kedalam BCS kelas I dan III memenuhi persyaratan untuk dinilai kesetaraan terapinya dengan menggunakan *biowaiver* (WHO, 2015).

*Biowaiver* merupakan metodologi yang membutuhkan biaya yang lebih rendah untuk menilai kesetaraan obat generik terhadap inovatornya. *Biowaiver* dapat dilakukan terhadap produk obat dengan pelepasan segera (Reddy *et al.*, 2014). *Biowaiver* dapat digunakan untuk menilai ekivalensi produk obat dengan kelarutan tinggi, tidak mengandung bahan tambahan yang mempengaruhi penyerapan zat aktifnya, tidak mengandung zat aktif dengan indeks terapi yang sempit, bukan obat yang dapat diabsorpsi di mulut (WHO, 2006).

Dari studi kelarutan dan permeabilitas menunjukkan bahwa amoksisilin dengan dosis kurang dari 875 mg masuk ke dalam BCS kelas I, sedangkan 875 mg hingga 1000 mg masuk ke dalam BCS kelas II, dan dosis lebih dari 1000 mg masuk ke dalam BCS kelas IV. Dalam penelitian ini digunakan kaplet 500 mg, sehingga termasuk dalam BCS kelas 1. Dengan mempertimbangkan banyak aspek, prosedur *biowaiver* dapat direkomendasikan untuk produk sediaan oral padat dari amoksisilin dengan pelepasan segera dengan dosis kurang dari 875 mg (Thambavita *et al.*, 2017). Amoksisilin tidak termasuk dalam obat dengan indeks terapi yang sempit (Blix *et al.*, 2010). Tablet amoksisilin bukan termasuk obat yang diabsorpsi di mulut. Tablet amoksisilin memenuhi persyaratan untuk dilakukan studi *biowaiver* (Thambavita *et al.*, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sifat fisika kimia dan uji disolusi terbandingkan sediaan kaplet amoksisilin yang beredar dipasaran dan kemungkinan untuk dilakukan studi *biowaiver*.

## 2. Metodologi penelitian

### 2.1. Alat penelitian:

Peralatan yang digunakan dalam penelitian: alat uji disintegrasi (Erweka ZT 320), alat uji disolusi (Erweka DT 820), *hardness tester*, Spektrofotometer UV (Hitachi U-2900), neraca analitik (Ohaus AX124), dan mikropipet (Boeco NF 996677).

### 2.2. Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan: kaplet amoksisilin 500 mg sebagai produk pembanding (E), 2 jenis kaplet amoksisilin generik berlogo 500 mg (A dan B), 2 jenis kaplet amoksisilin generik bermerek 500 mg (C dan D), amoksisilin (*working standart, USP*), HCl 0,1 N, dapar HCl (pH 1,2), dapar asetat (pH 4,5), dapar fosfat (pH 6,8), akuades.

### 2.3. Jalannya penelitian

#### i. Uji sifat fisik kaplet

Uji sifat fisik yang diuji meliputi diameter dan ketebalan kaplet, uji kekerasan dan waktu hancur. Uji diameter dan ketebalan kaplet dilakukan dengan mengukur diameter dan ketebalan

kaplet dengan jangka sorong (Kemenkes, 2014). Uji kekerasan dilakukan dengan menggunakan *hardness tester*. Kaplet diletakkan di ujung alat, skrup diputar sampai tablet pecah. Nilai kekerasan kaplet dibaca pada skala yang tertera pada alat dengan satuan kg (Kemenkes, 2014). Uji waktu hancur dilakukan dengan menggunakan *disintegration tester*. Setiap tabung dari keranjang diisi dengan satu kaplet, dimasukkan satu cakram pada tiap tabung dan dijalankan alat. Tablet dimasukkan ke dalam media air dengan suhu  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Alat dijalankan hingga semua fraksi pecahan kaplet lewat ayakan yang terletak pada bagian bawah alat (Kemenkes, 2014).

ii. *Uji keseragaman sediaan*

Uji keseragaman sediaan dilakukan dengan cara menimbang secara saksama 10 tablet satu per satu. Ditetapkan jumlah zat aktif dalam tiap tablet yang dinyatakan dalam persen dan jumlah yang tertera pada etiket dari hasil Penetapan kadar masing-masing tablet, dihitung nilai penerimaan. Diambil 10 kaplet dari masing-masing produk, digerus hingga halus. Ditimbang sebanyak 100,0 mg serbuk kemudian dimasukkan kedalam labu takar 100 mL, ditambahkan larutan HCl 0,1 N hingga tanda dan di homogenkan. Sampel diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 228 nm (Kemenkes, 2014).

iii. *Uji disolusi*

Uji disolusi dilakukan dengan menggunakan alat tipe 2 USP. Pengaturan alat: putaran pengaduk pada 75 rpm, jumlah medium disolusi 900 mL, dan suhu  $37^{\circ}\text{C} (\pm 0,5^{\circ}\text{C})$ . Media yang digunakan yaitu larutan dapar HCl pH 1,2; dapar asetat pH 4,5; dapar fosfat pH 6,8. Kaplet dimasukkan ke dalam bejana disolusi, alat dijalankan dan diambil sampel sebanyak 5 mL pada menit ke 10, 15, 20, 30, 45, 60. Setiap pengambilan larutan, diganti dengan medium dan suhu yang sama sebanyak 5 mL. Kadar dihitung dengan menggunakan persamaan kurva baku yang telah diperoleh untuk masing-masing medium disolusi (BPOM, 2015).

iv. *Pembuatan kurva baku amoksisilin untuk penetapan kadar dalam tablet dan dalam media disolusi*

Kurva baku dibuat sebanyak 4 buah, yaitu: 1 untuk penetapan kadar dalam tablet dan 3 untuk penetapan kadar dalam berbagai media disolusi. Larutan stok dibuat dengan cara: 10,0 mg amoksisilin ditimbang secara seksama, dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL dan ditambahkan berbagai larutan sesuai dengan tujuan penggunaan sampai tanda. Larutan yang ditambahkan yaitu HCl 0,1 N (untuk penetapan kadar); larutan HCl pH 1,2; dapar asetat pH 4,5 atau fosfat pH 6,8 (untuk uji penetapan kadar dalam media disolusi). Dibuat lima seri kadar dari

masing-masing larutan stok tersebut. Sampel diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum (Gandjar & Rohman, 2012).

### 3. Hasil dan pembahasan

#### 3.1 Sifat fisik kaplet dan penetapan kadar

##### 3.1.1 Panjang, lebar dan ketebalan kaplet

Pengukuran panjang, lebar dan ketebalan kaplet yang dilakukan mendapatkan hasil seperti yang tertera pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran dimensi kaplet amoksisilin

	Produk amoksisilin				
	A	B	C	D	E
Panjang (mm)	18,02±0,03	18,05±0,06	18,09±0,09	17,25±0,03	18,04±0,07
Lebar (mm)	6,52±0,03	6,99±0,04	7,05±0,0	5,93±0,03	6,55±0,0
Tinggi (mm)	5,89±0,08	5,78±0,03	5,93±0,03	6,08±0,05	5,92±0,03

**Keterangan :**

Nilai dalam  $\bar{x} \pm SD$ ; semua parameter memiliki nilai CV < 5%

A : Amoksisilin generik berlogo

D : Amoksisilin generik bermerek

B : Amoksisilin generik berlogo

E : Amoksisilin Pembanding

C : Amoksisilin generik bermerek

Tabel 1 menunjukkan ukuran kaplet yang seragam antara kaplet satu dengan kaplet lain, dengan nilai *Coefficient Variasi* (CV) < 5% untuk semua parameter. Secara umum, sediaan yang diproduksi dengan bobot yang relatif sama akan menggunakan *punch* dan *dies* yang sama ukurannya. Dimensi kaplet yang relatif sama akan lebih mudah dalam membandingkan profil disolusi karena luas kontak awal pada saat disolusi akan sama.

##### 3.1.2 Keseragaman sediaan

Keseragaman sediaan ditetapkan dengan salah satu dari dua metode, yaitu keragaman bobot dan keseragaman kandungan. Dalam hal ini dilakukan keragaman bobot karena zat aktif dalam tiap kaplet lebih dari 25%. Hasil uji keragaman bobot kaplet diperoleh hasil yang tertera pada Tabel 2. Tabel II menunjukkan bahwa seluruh kaplet memenuhi persyaratan keragaman bobot kaplet (NP < 15). Keragaman bobot yang baik memberikan jaminan bahwa kadar obat dalam setiap sediaan seragam.

**Tabel 2.** Keseragaman sediaan kaplet amoksisilin

Produk	Bobot Kaplet(mg)	Label klaim kadar (%)		
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	NP	CV
A	689,57 $\pm$ 17,71	98,51 $\pm$ 2,53	6,07	2,57
B	661,01 $\pm$ 12,18	94,43 $\pm$ 1,74	8,25	1,84
C	660,09 $\pm$ 13,42	94,29 $\pm$ 1,92	8,80	2,03
D	692,13 $\pm$ 9,13	98,88 $\pm$ 1,30	3,13	1,32
E	693,11 $\pm$ 7,31	99,02 $\pm$ 1,05	2,51	1,06

**Keterangan :**

A : Amoksisilin generik berlogo

D : Amoksisilin generik bermerek

B : Amoksisilin generik berlogo

E : Amoksisilin Pembanding

C : Amoksisilin generik bermerek

**3.1.3 Kekerasan kaplet, waktu hancur dan penetapan kadar**

Pengukuran kekerasan, waktu hancur dan kadar dalam sediaan kaplet diperoleh hasil seperti yang tertera pada tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil uji kekerasan, waktu hancur dan penetapan kadar sediaan kaplet amoksisilin

Parameter uji	Kaplet				
	A	B	C	D	E
<b>Kekerasan ( kg/cm<sup>2</sup> )</b>					
$\bar{x} \pm SD$	11,77 $\pm$ 4,36	4,28 $\pm$ 1,06	14,02 $\pm$ 1,08	8,99 $\pm$ 2,18	14,45 $\pm$ 0,59
CV (%)	37,08	24,73	7,72	24,3	4,05
<b>Waktu Hancur (Menit)</b>					
$\bar{x}$	3:46	2:23	5:12	2:11	3:16
<b>Kadar Amoksisilin dalam kaplet (%)</b>					
$\bar{x} \pm SD$	114,33 $\pm$ 1,17	104,42 $\pm$ 4,07	105,88 $\pm$ 2,45	113,29 $\pm$ 2,57	114,55 $\pm$ 1,45
CV (%)	1,02	3,89	2,31	2,27	1,27

**Keterangan :**

A : Amoksisilin generik berlogo

D : Amoksisilin generik bermerek

B : Amoksisilin generik berlogo

E : Amoksisilin Pembanding

C : Amoksisilin generik bermerek

Hasil uji kekerasan kaplet, memiliki nilai kekerasan yang beragam yaitu 4-15 kg/cm<sup>2</sup>. Kekerasan tablet yang beragam akan mempengaruhi waktu hancur dan disolusi. Data hasil uji waktu hancur juga menunjukkan waktu hancur yang beragam. Dari hasil tersebut terlihat tidak ada korelasi yang linear antara kekerasan dengan waktu hancur. Kekerasan yang tinggi tidak serta merta menyebabkan waktu hancur menjadi lebih lama, karena waktu hancur juga



dipengaruhi oleh faktor lain seperti fungsi dan kinerja bahan penghancur, porositas tablet dan kemudahan penetrasi air. Semua tablet memenuhi persyaratan waktu hancur kurang dari 15 menit (Kemenkes, 2014).

Persyaratan kadar amoksisilin dalam kaplet: mengandung amoksisilin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket (Kemenkes, 2014). Kadar yang diperoleh terhadap 5 jenis kaplet menunjukkan bahwa semuanya memenuhi persyaratan. Dari nilai CV yang diperoleh, kadar amoksisilin dalam sediaan juga seragam .

### 3.1.4 Kurva Baku Amoksisilin untuk Penetapan Kadar dalam kaplet dan Uji Disolusi

Persamaan kurva baku amoksisilin dalam tercantum pada tabel 4.

**Tabel 4.** Persamaan kurva baku amoksisilin dalam berbagai media

Pelarut/Medium	$\lambda$ max	Persamaan Kurva Baku	R	r <sup>2</sup>
HCl 0,1 N	228	y= 0,0223x-0,0292	0,99935	0,99967
Dapar HCl pH 1,2	228	y= 0,022x-0,0762	0,99820	0,99910
Dapar Asetat pH 4,5	228	y= 0,0217x-0,0496	0,99959	0,99979
Dapar Fosfat pH 6,8	227	y= 0,0218x-0,0662	0,99975	0,99987

Persamaan kurva baku yang diperoleh mempunyai hubungan linier yang, sehingga dapat digunakan untuk penetapan kadar amoksisilin dalam kaplet maupun untuk uji disolusi. Hal ini ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi untuk ke-4 pelarut >0,99. Persyaratan harga r<sup>2</sup> untuk metode pengukuran dengan spektrofotometri UV menurut USP 38 yaitu  $\geq 0,98$  (USP, 2015).

### 3.1.5 Profil disolusi dan disolusi terbanding

Hasil uji disolusi amoksisilin dalam medium pH 1,2; 4,5 dan 6,8 ditunjukkan pada tabel 5. Hasil uji disolusi, dalam waktu 30 menit 100 % obat sudah terdisolusi. Kaplet amoksisilin di dalam monografi (FI V), dipersyaratkan Q<sub>30</sub> tidak kurang dari 75 % terdisolusi dari yang tertera di etiket. Hasil interpretasi diperoleh hasil uji disolusi memenuhi persyaratan FI, yaitu untuk *stage 1* (S1) maka dipersyaratkan tiap unit sediaan tidak kurang dari Q+5% dan rata-rata jumlah zat terlarut tidak kurang dari Q + 10% (Kemenkes, 2014). Amoksisilin trihidrat memiliki kelarutan dalam air 1 : 400, dan WHO juga mengklasifikasikan amoksisilin 250 dan 500 mg termasuk ke dalam BCS kelas I (kelarutan dan permeabilitas tinggi). Hal ini yang menyebabkan kaplet dapat terdisolusi dengan cepat, dalam waktu 20 menit sudah terdisolusi 100 %.

**Tabel 5.** Persen rata-rata obat terdisolusi pada berbagai media

<b>Persen rata-rata obat terdisolusi (Q) dalam buffer HCl pH 1,2</b>							
Kaplet	Waktu (menit)						
	0	10	15	20	30	45	60
A	0	93,82	98,02	104,76	108,36	110,33	113,58
B	0	102,58	104,38	104,92	106,39	107,81	110,16
C	0	106,94	109,18	110,47	110,99	112,11	113,23
D	0	102,22	105,15	107,09	108,32	109,83	112,86
E	0	104,1	107,09	108,48	109,22	110,28	112,51

<b>Persen rata-rata obat terdisolusi (Q) dalam buffer asetat pH 4,5</b>							
Kaplet	Waktu (menit)						
	0	10	15	20	30	45	60
A	0	81,26	93,87	98,34	102,92	105,91	108,17
B	0	84,57	95,37	98,92	100,52	103,16	107,01
C	0	94,04	101,47	106,64	108,69	112,48	116,43
D	0	88,29	97,71	100,32	104,62	106,93	110,8
E	0	75,27	84,93*	89,5	93,5	97,37	103,43

<b>Persen rata-rata obat terdisolusi (Q) dalam buffer fosfat pH 6,8</b>							
Kaplet	Waktu (menit)						
	0	10	15	20	30	45	60
A	0	92,98	100,37	102,63	105,63	106,89	109,71
B	0	90,57	95,18	100,12	103,83	105,1	106,5
C	0	99,29	103,5	105,41	107,41	109,4	110,31
D	0	95,56	105,43	109,36	110,85	112,27	113,7
E	0	90,79	97,56	102,68	106,62	108,77	110,16

**Keterangan :**

A : Amoksisilin generik berlogo

D : Amoksisilin generik bermerek

B : Amoksisilin generik berlogo

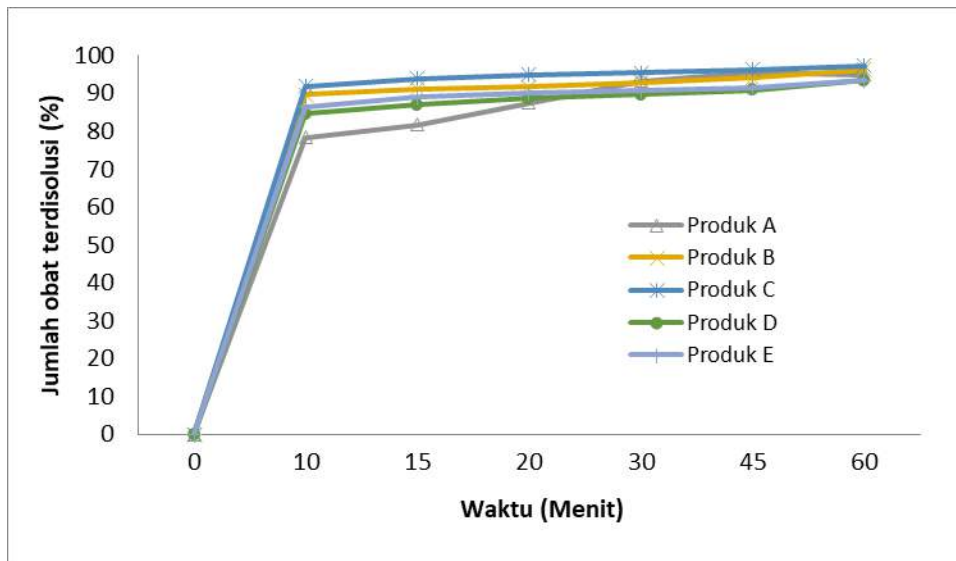
E : Amoksisilin Pembanding

C : Amoksisilin generik bermerek

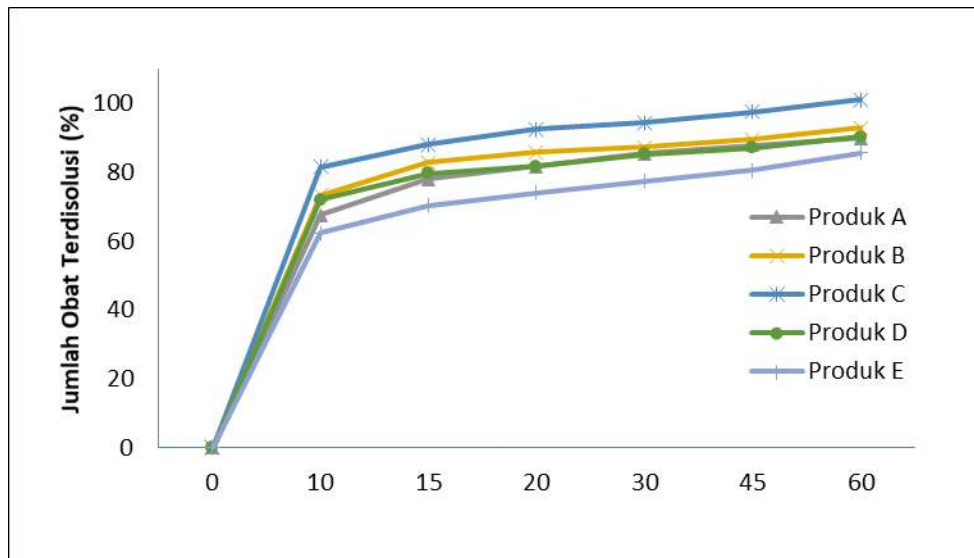
\* : Q &lt; 85%

Persyaratan suatu kaplet dapat menyederhanakan uji bioekivalensi dengan studi biowaiver yaitu apabila produk uji terdisolusi  $\geq 85\%$  pada menit ke 15. Produk uji yang memenuhi kriteria  $\geq 85\%$  obat terdisolusi pada menit ke 15 yaitu kaplet A, B, C, dan D sedangkan kaplet E tidak memenuhi kriteria. Dalam kasus ini, biowaiver belum dapat dipertimbangkan untuk meniadakan uji *in vivo* (Bioekivalen). Walaupun menurut Thambavita dkk., 2017, sediaan oral padat dari amoksisilin dengan pelepasan segera dengan dosis kurang dari 875 mg relevan untuk dilakukan biowaiver saja.

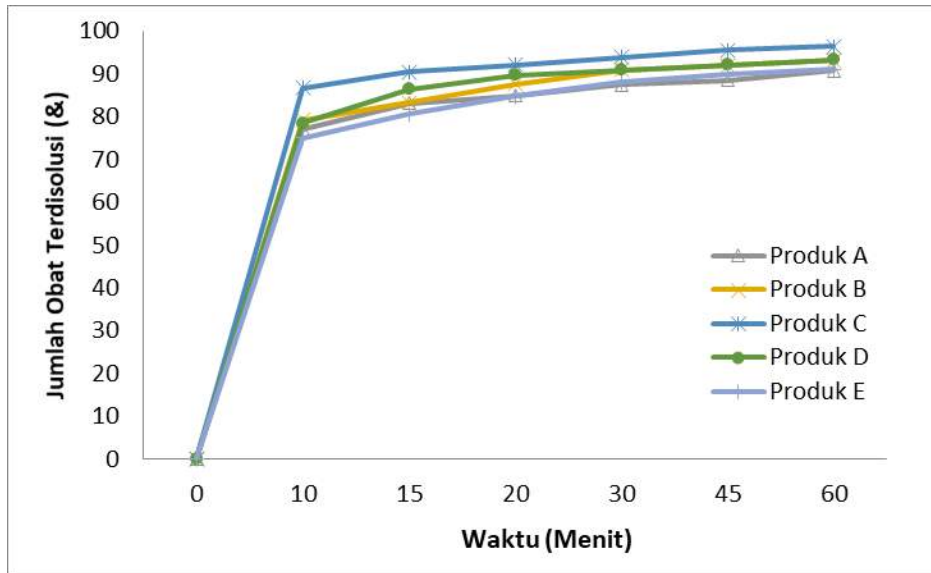
Kurva profil disolusi kaplet amoksisilin dalam berbagai medium disolusi ditunjukkan pada gambar 1,2 dan3.



**Gambar 1.** Profil jumlah amoksisilin terdisolusi pada pH 1,2



**Gambar 2.** Profil jumlah amoksisilin terdisolusi pada pH 4,5



**Gambar 3.** Profil jumlah amoksisilin terdisolusi pada pH 6,8

Jumlah obat yang terdisolusi dari menit ke-0 hingga menit ke-10 naik dengan cepat karena kaplet yang diuji merupakan sediaan *immediate release*. Kaplet amoksisilin dengan kekuatan kurang dari 875 mg masuk ke dalam BCS kelas I, sehingga dalam waktu 10 menit 90 % obat sudah terdisolusi. Kaplet dengan cepat terdisintegrasikan yang diikuti dengan disolusi. Pada menit selanjutnya peningkatan jumlah obat yang terdisolusi menjadi perlahan karena jumlah obat yang belum terdisolusi tersisa sedikit.

**Tabel 6.** Nilai similaritas ( $f_2$ ) berbagai produk kaplet amoksisilin

Perbandingan Produk	Nilai $f_2$		
	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
A-E	63,04	56,48	86,44
B-E	78,88	56,44	77,87
C-E	84,05	41,33*	68,89
D-E	90,11	49,60*	64,81
B-C	67,70	52,01	60,37

**Keterangan :**

A : Amoksisilin generik berlogo  
 B : Amoksisilin generik berlogo  
 C : Amoksisilin generik bermerek

D : Amoksisilin generik bermerek  
 E : Amoksisilin Pembanding  
 \* : Nilai  $f_2 \leq 50$

Uji disolusi terbanding dilakukan untuk membandingkan profil disolusi antara produk uji dengan produk pembanding. Produk uji dikatakan mirip dengan produk pembanding apabila memiliki nilai  $f_2$  (*similarity factor*)  $\geq 50$ . Perbandingan profil disolusi juga dilakukan terhadap kaplet B dan C yang berasal dari industri yang sama. Nilai  $f_2$  dalam medium pH 1,2; 4,5 dan 6,8 dari kaplet uji ditunjukkan pada tabel 6.

Pada tabel 6 terlihat bahwa pada pH 1,2 dan 6,8 kaplet A, B, C, D memiliki nilai  $f_2 \geq 50$  dibandingkan dengan produk pembanding (kaplet E). Keempat kaplet memenuhi syarat uji disolusi terbanding (UDT) atau dengan kata lain tablet uji identik dengan kaplet pembanding (produk E). Pada pH 4,5 terdapat 2 produk uji yaitu kaplet C dan D memiliki nilai  $f_2$  kurang dari 50 sehingga tidak memiliki kemiripan dengan produk pembanding. Dapat disimpulkan bahwa hanya produk A dan B saja yang memenuhi syarat uji disolusi terbanding (sebanding dengan produk pembanding).

Dari uji disolusi yang dilakukan, hasil yang diperoleh dicoba korelasikan dengan hasil uji kekerasan dan waktu hancur kaplet. Umumnya kaplet dengan kekerasan yang tinggi akan memiliki waktu hancur dan disolusi yang lama. Akan tetapi, hasil yang diperoleh tidak demikian. Produk A, C, D, dan E memiliki kekerasan yang relatif cukup tinggi namun tetap memiliki waktu hancur yang cepat. Dari ke empat produk, waktu hancur terlama yaitu produk C yaitu 5 menit 12 detik, sementara produk B memiliki kekerasan  $4,28 \pm 1,06$ , waktu hancurnya 2 menit 23 detik. Dari data uji disolusi pada ketiga pH, semua produk mengalami peningkatan disolusi secara cepat pada 10 menit pertama, sehingga disini kekerasan kaplet tidak berbanding lurus dengan kecepatan disolusi obatnya. Hal ini dapat disebabkan formula yang digunakan mengandung bahan yang dapat mempercepat waktu hancur dan kecepatan disolusinya.

#### **4 Kesimpulan**

Hasil uji sifat fisik kaplet, semua produk kaplet memiliki dimensi yang hampir sama, semua produk memenuhi persyaratan keseragaman sediaan, kekerasan, waktu hancur dan disolusi. Dari hasil disolusi, kaplet A dan B memiliki kemiripan profil disolusi terhadap obat pembanding (produk E) yang ditunjukkan dengan nilai  $f_2 \geq 50$ . Kaplet C dan D memiliki nilai  $f_2 \geq 50$  hanya pada pH 1,2 dan 6,8; sementara pada pH 4,5 nilai  $f_2 \leq 50$  sehingga tidak memiliki kemiripan profil disolusi.

## Daftar pustaka

- Arafat, A. P. D. M., Ahmed, Z., & Arafat, O. (2017). Comparison between generic drugs and brand name drugs from bioequivalence and thermoequivalence prospective *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9, 1-4. doi:10.22159/ijpps.2017v9i6.18735
- Blix, H. S., Viktil, K. K., Moger, T. A., & Reikvam, A. (2010). Drugs with narrow therapeutic index as indicators in the risk management of hospitalised patients. *Pharm Pract (Granada)*, 8(1), 50-55. doi:10.4321/s1886-36552010000100006
- BPOM. (2015). *Pedoman uji bioekivalensi*. Jakarta: BPOM
- Chow, S. C. (2014). Bioavailability and Bioequivalence in Drug Development. *Wiley Interdiscip Rev Comput Stat*, 6(4), 304-312. doi:10.1002/wics.1310
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2012). *Analisis obat secara spektrofotometri dan kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Kemenkes. (2014). *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Kemenkes RI
- Kesselheim, A. S., Misono, A. S., Lee, J. L., Stedman, M. R., Brookhart, M. A., Choudhry, N. K., & Shrank, W. H. (2008). Clinical equivalence of generic and brand-name drugs used in cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 300(21), 2514-2526. doi:10.1001/jama.2008.758
- Kesselheim, A. S., Stedman, M. R., Bubrick, E. J., Gagne, J. J., Misono, A. S., Lee, J. L., Brookhart, M. A., Avorn, J., & Shrank, W. H. (2010). Seizure outcomes following the use of generic versus brand-name antiepileptic drugs: a systematic review and meta-analysis. *Drugs*, 70(5), 605-621. doi:10.2165/10898530-000000000-00000
- Mhamunkar, S. (2013). Comparative dissolution studies of an extended release Formulation of Tolterodine Tartrate and Tamsulosin HCl. *BioMedRx*, 1, 333-338.
- Reddy, N. H., Patnala, S., Löbenberg, R., & Kanfer, I. (2014). In vitro dissolution of generic immediate-release solid oral dosage forms containing BCS class I drugs: comparative assessment of metronidazole, zidovudine, and amoxicillin versus relevant comparator pharmaceutical products in South Africa and India. *AAPS PharmSciTech*, 15(5), 1076-1086. doi:10.1208/s12249-014-0135-6
- Thambavita, D., Fernando, S., Galappaththy, P., & Jayakody, R. (2018). Application of Biowaiver Methodology for a Post-Marketing Study of Generic and Brand Name Metronidazole Tablets. *Dissolution Technologies*, 25, 34-38. doi:10.14227/DT250218P34
- Thambavita, D., Galappaththy, P., Mannapperuma, U., Jayakody, L., Cristofolletti, R., Abrahamsson, B., Groot, D. W., Langguth, P., Mehta, M., Parr, A., Polli, J. E., Shah, V. P., & Dressman, J. (2017). Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Amoxicillin Trihydrate. *J Pharm Sci*, 106(10), 2930-2945. doi:10.1016/j.xphs.2017.04.068
- USP. (2015). *US Pharmacopeia National Formulary: USP 38/NF 33*. Rockville: United States pharmacopeia Inc.
- WHO. (2006). WHO expert committee on specification for pharmaceutical preparations, 40th In. Geneva: WHO.
- WHO. (2015). WHO expert committee on specification for pharmaceutical preparations, 49th In. Geneva: WHO.

## Studi stabilitas sediaan *Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) asam mefenamat dengan asam oleat sebagai fase minyak

### Stability studies of mefenamic acid *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* preparation with oleic acid as the oil phase

Septiani Eka Cahyani, Bambang Hernawan Nugroho, Yandi Syukri\*

Department of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang KM. 14.5 Yogyakarta 55584

\*Corresponding author: [yandisyukri@uui.ac.id](mailto:yandisyukri@uui.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** Mefenamic acid is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) with low solubility in water. *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems* (SNEDDS) play a role to improve the solubility and bioavailability of mefenamic acid.

**Objective:** This study aimed to determine the stability of mefenamic acid in SNEDDS formulation through various stability studies.

**Methods:** The stability studies conducted consisted of centrifugation test, heating-cooling cycle test, freeze-thaw cycle test, robustness to dilution, accelerated storage test, and determination of drug content.

**Results:** The centrifugation test, heating-cooling cycle test, and freeze-thaw cycle test showed no phase separation in the samples. The robustness to dilution and accelerated storage test resulted in 2 formulas of mefenamic acid loaded SNEDDS having good stability with 10% oleic acid, 80% tween 80, 10% PEG 400 and 10% oleic acid, 70% tween 80, 20% PEG 400. The determination of drug content in both of these formulations showed  $98.20 \pm 0.04\%$  and  $90.98 \pm 0.06\%$ .

**Conclusion:** The SNEDDS formulation of mefenamic acid in this study had good stability.

**Keywords:** SNEDDS, mefenamic acid, stability study, oleic acid

#### Intisari

**Latar belakang:** Asam mefenamat merupakan obat anti inflamasi non steroid (AINS) dengan kelarutan yang rendah di dalam air. Salah satu cara untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas asam mefenamat membuatnya dalam bentuk sediaan *Self Nano-Emulsifying Delivery Drug System* (SNEDDS)

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan stabilitas SNEDDS asam mefenamat terhadap berbagai studi stabilitas yang dilakukan

**Metode:** Uji stabilitas dilakukan dengan uji sentrifugasi, uji siklus panas-dingin, uji siklus beku-cair, uji ketahanan, uji penyimpanan dipercepat, dan uji kadar.

**Hasil:** Evaluasi uji sentrifugasi yaitu tidak terjadi pemisahan, pada uji siklus panas-dingin dan uji siklus beku-cair tetap stabil dan tidak terjadi pemisahan fase. Hasil dari uji ketahanan dan uji penyimpanan dipercepat menunjukkan 2 formula SNEDDS asam mefenamat yang memiliki stabilitas yang baik dengan komponen asam oleat 10%, tween 80 80%, PEG 400 10% dan asam oleat 10%, tween 80 70%, PEG 400 20%. Pada uji kadar diperoleh kadar asam mefenamat selama penyimpanan pada formula diatas adalah  $98,20 \pm 0,04 \%$  dan  $90,98 \pm 0,06 \%$ .

**Kesimpulan:** Dapat disimpulkan sediaan SNEDDS asam mefenamat memiliki stabilitas yang baik terhadap berbagai studi stabilitas yang dilakukan.

**Kata kunci :** SNEDDS, asam mefenamat, studi stabilitas, asam oleat

---

## 1. Pendahuluan

Asam mefenamat merupakan obat anti inflamasi non steroidal (AINS) yang banyak digunakan oleh masyarakat. Asam mefenamat bisa digunakan untuk pengobatan sakit kepala, sakit gigi, dismenore, rheumatoid arthritis, osteoarthritis dan gangguan sendi lainnya (Sriamornsak *et al.*, 2015).

Laju disolusi obat atau kecepatan melarut obat merupakan masalah yang sering terjadi. Asam mefenamat termasuk dalam *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas 2 dengan kelarutan yang rendah dan permeabilitas tinggi. Asam mefenamat memiliki bioavailabilitas yang rendah. Untuk mengatasi masalah bioavailabilitas pada obat dengan BCS kelas 2 yaitu dengan meningkatkan kelarutan dan laju disolusi obat dalam cairan lambung (Waterbeemd *et al.*, 2009). Laju disolusi merupakan faktor penentu absorpsi obat pada obat-obat dengan kelarutan yang rendah (Syukri *et al.*, 2015b). Peningkatan luas permukaan dari obat-obat dengan kelarutan rendah, misalnya karena pengurangan ukuran dalam bentuk nano dapat meningkatkan laju disolusi, yang biasa disebut nanopartikel (Ito *et al.*, 2016).

Berdasarkan sifat kelarutan dari asam mefenamat yang rendah, bentuk sediaan *Self Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) dipilih untuk meningkatkan bioavailabilitas oral obat-obat yang sukar larut dalam air seperti asam mefenamat (Sriamornsak *et al.*, 2015). SNEDDS merupakan sistem penghantaran obat yang mengandung campuran minyak, surfaktan, ko-surfaktan, dan obat yang membentuk nanoemulsi secara spontan (*self-emulsifying*) saat dimasukkan ke dalam fase air. Hasil pencampuran sediaan SNEDDS dalam cairan lambung setelah dikonsumsi akan membentuk nanoemulsi. Bentuk nanoemulsi dipilih karena dalam nanoemulsi terdapat kandungan minyak yang dapat membawa asam mefenamat yang sukar larut dalam air. Ukuran dari SNEDDS yaitu antara 10-200 nm. Keunggulan sediaan SNEDDS adalah kemampuan membentuk nanoemulsi secara spontan di dalam saluran cerna dan ukuran tetesan yang dihasilkan berukuran nanometer. Berdasarkan penelitian sebelumnya sediaan SNEDDS memiliki stabilitas tinggi, dapat menurunkan dosis dan frekuensi dosis karena meningkatnya bioavailabilitas (Chaudhary *et al.*, 2019).

Ukuran globul dapat mempengaruhi stabilitas sediaan emulsi. Sediaan nanoemulsi tidak menunjukkan masalah sedimentasi dan *creaming*, yang umumnya terjadi pada sediaan mikroemulsi. Nanoemulsi dapat stabil karena ukuran globul yang sangat kecil sehingga tidak terjadi sedimentasi dan *creaming*. Ukuran globul yang kecil juga dapat mencegah terjadinya flokulasi (Jaiswal *et al.*, 2015).

Asam oleat yang memiliki HLB 17 banyak digunakan dalam sediaan emulsi seperti *Self emulsifying Drug Delivery System* (SEDDS), *Self-Micro Emulsifying Drug Delivery System* (SMEDDS),



dan Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). Kelarutan asam mefenamat dalam asam oleat berdasarkan data optimasi yang dilakukan peneliti lain yaitu 8,15 mg/ml (Istanti, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan studi stabilitas dari sediaan *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) asam mefenamat dengan fase minyak asam oleat yang meliputi uji sentrifugasi, uji siklus panas-dingin, uji siklus beku-cair, uji ketahanan, uji penyimpanan dipercepat untuk melihat stabilitas fisik dan uji kadar untuk melihat stabilitas kimia dari sediaan SNEDDS asam mefenamat, sehingga dapat memberikan gambaran tentang formulasi yang optimal dan stabil terhadap serangkaian uji stabilitas yang dilakukan.

## **2. Metodologi penelitian**

### *2.1 Bahan*

Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu asam mefenamat (PT. Chem Cross), asam oleat (PT. Menjangan Sakti), tween 80 (PT. Brataco), PEG 400 (PT. Brataco), metanol p.a. (MERCK) dan *aqua pro injectio* (Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia) dimana semua bahan memiliki kualitas farmasetis.

### *2.2 Penentuan $\lambda$ maksimal asam mefenamat*

Penentuan  $\lambda$  maksimal asam mefenamat dilakukan dengan cara ditimbang 12,5 mg asam mefenamat lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian dilarutkan menggunakan metanol sampai tanda batas dan diperoleh konsentrasi 250 ppm. Selanjutnya diambil 0,36 ml diencerkan menggunakan metanol sampai tanda batas ke dalam labu ukur 10 ml, diperoleh konsentrasi 9 ppm. Setelah itu larutan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV/Vis (*Shimadzu UV Spechtrophotometer, UV-1800*) pada panjang gelombang 240-340 nm dengan metanol sebagai blanko (Qamar, 2014).

### *2.3 Pembuatan kurva kalibrasi asam mefenamat*

Dari larutan baku 250 ppm, dibuat seri kadar 6, 8, 10, 12, dan 14 ppm didalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkan menggunakan metanol sampai tanda batas. Larutan kemudian dibaca absorbansinya (Qamar, 2014).

### *2.4 Pembuatan SNEDDS asam mefenamat*

Asam mefenamat ditimbang sebanyak 50 mg ditambahkan tween 80 sebagai surfaktan lalu disonikasi sampai homogen, kemudian ditambahkan PEG 400 sebagai ko-surfaktan lalu disonikasi kembali, dan terakhir ditambahkan asam oleat sebagai fase minyak lalu disonikasi untuk homogenisasi dan memperkecil ukuran partikel. Jumlah minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan yang ditambahkan tergantung dari perbandingan minyak: Smix.

### 2.5 Uji sentrifugasi

SNEDDS asam mefenamat diencerkan 100 kali menggunakan *aqua pro-injectio*, lalu disentrifugasi pada 3500 rpm selama 30 menit kemudian dilihat secara visual untuk pemisahan fase (Weerapol *et al.*, 2014).

### 2.6 Uji siklus-panas dingin

Formulasi yang stabil pada uji sentrifugasi selanjutnya dilakukan uji siklus panas-dingin sebanyak enam siklus setiap 8 jam pada masing-masing suhu 4°C dan 40°C dengan penyimpanan SNEDDS asam mefenamat tidak kurang dari 48 jam. Lalu disentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit dan diamati pemisahan fase yang terjadi (Syukri *et al.*, 2018).

### 2.7 Uji siklus beku-cair

Formulasi yang stabil pada uji siklus panas-dingin selanjutnya dilakukan uji siklus beku-cair sebanyak enam siklus. SNEDDS asam mefenamat disimpan pada suhu -20°C selama 8 jam untuk siklus pertama, kemudian dikeluarkan dan disimpan pada suhu 25°C untuk siklus kedua, ditunggu hingga mencair selama 3 menit. Selanjutnya dilanjutkan siklus ke tiga sampai keenam dengan perlakuan yang sama. Lalu disentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit dan diamati pemisahan fase yang terjadi (Syukri *et al.*, 2018).

### 2.8 Uji ketahanan

Formulasi yang stabil pada uji siklus beku-cair selanjutnya dilakukan uji ketahanan. SNEDDS asam mefenamat diencerkan 25, 50, 100, dan 250 kali, menggunakan *aqua pro-injectio* dan dievaluasi perubahan ukuran globul, *Polydispersity index* (PDI), dan % transmitan (Weerapol *et al.*, 2014).

### 2.9 Uji penyimpanan dipercepat

Formulasi yang stabil pada uji ketahanan selanjutnya dilakukan uji penyimpanan dipercepat selama 1 bulan dengan kondisi penyimpanan 40°C ± 2°C/75% RH ± 5% RH, kemudian dievaluasi ukuran partikel, PDI, dan % transmitan pada minggu ke-0, 1, 2, 3, dan 4 pada SNEDDS asam mefenamat yang diencerkan 100 kali (Syukri *et al.*, 2019).

### 2.10 Uji kadar SNEDDS asam mefenamat

Diambil sediaan SNEDDS asam mefenamat sebanyak 0,25 ml kemudian dilarutkan di dalam labu ukur 10 ml, diperoleh konsentrasi 250 ppm. Dari larutan baku 250 ppm, diambil 0,4 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan menggunakan metanol sampai tanda batas (Qamar, 2014). Larutan kemudian dibaca absorbansinya. Dihitung kadar asam mefenamat yang terkandung dalam SNEDDS.

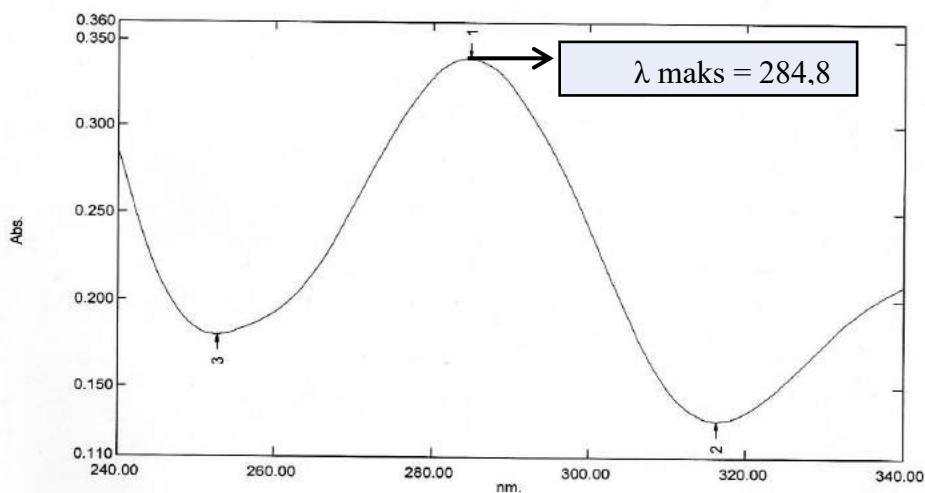
### 2.11 Analisis hasil

Pemisahan fase yang terjadi dapat diamati secara visual. Ukuran partikel dan PDI dari sediaan yang dihasilkan, ditentukan dengan menggunakan *particle size analyser* (PSA) dengan nilai ukuran partikel kurang dari 200 nm dan PDI 0,200-0,700. Untuk melihat nilai transmittan menggunakan spektrofotometri UV dengan nilai terbaik mendekati 100%.

## 3. Hasil dan pembahasan

### 3.1 Penetapan $\lambda$ maksimal asam mefenamat

Panjang gelombang maksimal asam mefenamat ditetapkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Istanti (2016). Panjang gelombang maksimal asam mefenamat ditentukan menggunakan spektrofotometer UV/Vis dengan kisaran panjang gelombang 240-340 nm. Penentuan panjang gelombang maksimal digunakan untuk mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi dari larutan baku asam mefenamat yang dilarutkan dengan metanol. Panjang gelombang dari asam mefenamat yaitu 285 nm (Qamar, 2014). Hasil yang diperoleh dari pembacaan panjang gelombang yaitu 284,8 nm. Hasil tersebut masih dapat diterima karena masuk kisaran daerah serapan maksimal.

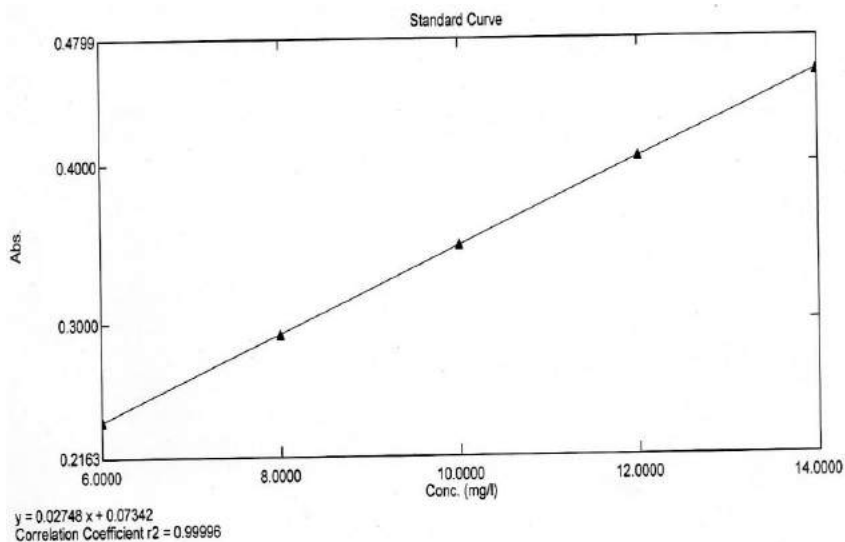


**Gambar 1.** Grafik panjang gelombang maksimum asam mefenamat

### 3.2 Pembuatan kurva baku asam mefenamat

Berdasarkan penelitian Istanti (2016), larutan baku asam mefenamat dianalisis pada berbagai konsentrasi dan diukur pada lamda maksimal yaitu 284,8 nm. Absorbansi dari berbagai konsesntrasi larutan kemudian diukur. Kurva baku dibuat dengan hubungan antara kadar asam mefenamat dengan serapan, lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dan konsentrasi (Colombo *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil Gambar 2 diperoleh nilai  $r$  yaitu 0,9996 yang menunjukkan

linieritas antara absorbansi dan kadar asam mefenamat dengan persamaan regresi linear  $y = 0,2748x + 0,07342$ .



**Gambar 2.** Grafik kurva baku asam mefenamat

### 3.3 Formulasi SNEDDS asam mefenamat

Studi stabilitas dilakukan berdasarkan hasil optimasi formulasi SNEDDS asam mefenamat terbaik yang dilakukan oleh Istanti (2016) dengan kadar 50 mg/5 ml. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Istanti (2016) diperoleh 9 formula optimal (Tabel 1) yang kemudian akan dilakukan serangkaian studi stabilitas yang meliputi uji sentrifugasi, uji siklus panas-dingin, uji siklus-beku cair, uji ketahanan, uji penyimpanan dipercepat, dan uji kadar sediaan.

**Tabel 1.** Karakterisasi SNEDDS asam mefenamat (n=3)

Minyak: Smix	O	T	P	Ukuran partikel (nm)	PDI	Transmitan (%)	Zeta potensial (mV)
1:9	10	80	10	188,37±5,22	0,546±0,07	84,65±0,005	-47,43±2,61
	10	70	20	198,00±1,65	0,470±0,04	81,56±0,002	-51,57±0,55
	10	60	30	344,27±31,66	0,877±0,02	66,17±0,006	-45,63±0,68
2:8	20	70	10	220,30±2,72	0,545±0,04	66,68±0,011	-49,33±1,16
	20	60	20	315,77±23,91	0,463±0,06	60,86±0,009	-43,50±5,76
	20	50	30	202,40±4,20	0,564±0,04	56,34±0,026	-50,80±0,53
3:7	30	60	10	837,50±37,62	0,867±0,02	47,71±0,010	-55,17±1,15
	30	50	20	347,73±11,65	0,508±0,01	41,82±0,013	-59,40±5,70
	30	40	30	431,03±16,25	0,830±0,02	9,06±0,033	-44,80±0,44

Ket: O = asam oleat, T = tween 80, P = PEG 400

### 3.4 Uji sentrifugasi

Uji ini dilakukan untuk melihat fase pemisahan yang terjadi pada sampel yang telah diencerkan 100 kali yang kemudian disentrifugasi pada 3500 rpm selama 30 menit (Tabel 2). *Creaming* memiliki sifat *reversible* yaitu emulsi dapat homogen kembali setelah pengocokan (Gambar 3). Faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya *creaming* pada emulsi dapat dikaitkan dengan hukum Stokes, semakin besar perbedaan kerapatan antar fase, peningkatan terdispersi akibat flokulasi, dan peningkatan gaya gravitasi dengan sentrifugasi, akan meningkatkan kecepatan *creaming*. Surfaktan seringkali ditambahkan ke dalam emulsi untuk meningkatkan viskositas dan mengurangi tegangan permukaan. *Creaming* dapat diperlambat dengan cara meningkatkan viskositas, mengecilkan ukuran partikel, dan meningkatkan kerapatan fase minyak (Anton & Vandamme, 2011).

**Tabel 2.** Hasil uji sentrifugasi

Minyak: Smix	asam oleat (%)	tween 80 (%)	PEG 400 (%)	Pemisahan fase	
				Replikasi 1	Replikasi 2
1:9	10	80	10	Tidak memisah	Tidak memisah
	10	70	20	Tidak memisah	Tidak memisah
	10	60	30	Tidak memisah	Tidak memisah
2:8	20	70	10	Tidak memisah	Tidak memisah
	20	60	20	Tidak memisah	Tidak memisah
	20	50	30	Tidak memisah	Tidak memisah
3:7	30	60	10	Memisah	Memisah
	30	50	20	Memisah	Memisah
	30	40	30	Memisah	Memisah



**Gambar 3.** Hasil uji sentrifugasi SNEDDS asam mefenamat

### 3.5 Uji siklus panas-dingin

Uji siklus panas-dingin bertujuan untuk melihat stabilitas dari SNEDDS asam mefenamat terhadap pemanasan dan pendinginan serta sentrifugasi yang diamati secara visual. Berdasarkan Tabel 3 tidak terjadi pemisahan pada formula yang diuji, dikarenakan asam mefenamat stabil pada suhu 4°C dan 40°C, titik lebur dari asam mefenamat yaitu 231 °C (Anonim, 2013b).

**Tabel 3.** Hasil uji siklus panas-dingin

Minyak: Smix	asam oleat (%)	tween 80 (%)	PEG 400 (%)	Pemisahan fase	
				Replikasi 1	Replikasi 2
1:9	10	80	10	Tidak memisah	Tidak memisah
	10	70	20	Tidak memisah	Tidak memisah
	10	60	30	Tidak memisah	Tidak memisah
2:8	20	70	10	Tidak memisah	Tidak memisah
	20	60	20	Tidak memisah	Tidak memisah
	20	50	30	Tidak memisah	Tidak memisah

Emulsi akan stabil pada suhu 40°C - 45°C dan tidak stabil pada suhu 50°C - 65°C seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4 dan Gambar 5. Emulsi akan lebih encer pada suhu tinggi dan akan mengental pada suhu rendah. Proses pembekuan lebih berpotensi dalam merusak emulsi dikarenakan kelarutan surfaktan yang lebih sensitif dalam fase minyak maupun fase air yang dapat merubah bentuk tetesan terdispersi (Anton & Vandamme, 2011).

**Gambar 4.** SNEDDS yang di uji pada suhu 4°C**Gambar 5.** SNEDDS yang di uji pada suhu 40°C

### 3.6 Uji siklus beku-cair

Uji siklus beku-cair bertujuan untuk melihat stabilitas dari SNEDDS asam mefenamat terhadap efek pembekuan dan pencairan yang dilakukan pada suhu -20°C dan 25°C (Gambar 6 dan Gambar 7) selama tiga siklus (Syukri *et al.*, 2019). Berdasarkan Tabel 4 tidak terjadi pemisahan fase pada semua formulasi SNEDDS asam mefenamat.

Emulsi akan stabil pada suhu 40°C - 45°C dan tidak stabil pada suhu 50°C - 65°C. Emulsi akan lebih encer pada suhu tinggi dan akan mengental pada suhu rendah. Proses pembekuan lebih

berpotensi dalam merusak emulsi dikarenakan kelarutan surfaktan yang lebih sensitif dalam fase minyak maupun fase air yang dapat merubah bentuk tetesan terdispersi (Anton & Vandamme, 2011).

**Tabel 4.** Hasil uji siklus beku-cair

Minyak: Smix	asam oleat (%)	tween 80 (%)	PEG 400 (%)	Pemisahan fase	
				Replikasi 1	Replikasi 2
1:9	10	80	10	Tidak memisah	Tidak memisah
	10	70	20	Tidak memisah	Tidak memisah
	10	60	30	Tidak memisah	Tidak memisah
2:8	20	70	10	Tidak memisah	Tidak memisah
	20	60	20	Tidak memisah	Tidak memisah
	20	50	30	Tidak memisah	Tidak memisah



**Gambar 6.** SNEDDS yang diuji pada suhu -20°C



**Gambar 7** SNEDDS yang diuji pada suhu 25°C

### 3.7 Uji ketahanan

Tujuan dilakukannya uji ketahanan yaitu untuk membuktikan bahwa emulsi/nanoemulsi yang terbentuk memiliki sifat serupa dengan pengenceran yang berbeda dan untuk memastikan bahwa obat tidak akan membentuk endapan pada pengenceran yang lebih tinggi (Syukri *et al.*, 2019). SNEDDS asam mefenamat diencerkan sebanyak 25, 50, 100, dan 250 kali kemudian dievaluasi ukuran partikel, PDI, dan % transmitan. Pengukuran ukuran partikel dan PDI dilakukan untuk melihat stabilitas asam mefenamat terhadap variasi pengenceran. Nilai PDI menggambarkan keseragaman ukuran partikel yang terukur dari suatu emulsi. Nilai PDI yang lebih besar dari 0,4 menunjukkan bahwa distribusi ukuran partikel pada sampel semakin luas sehingga menunjukkan semakin rendahnya keseragaman partikel yang terukur (Mao *et al.*, 2009).

**Tabel 5.** Hasil ukuran partikel dan PDI uji ketahanan (n=3)

Minyak: Smix	Formula O: T: P	Pengenceran			
		25X		50X	
		Ukuran partikel (nm)	PDI	Ukuran partikel (nm)	PDI
1:9	1:8:1	192,87 ± 5,40	0,550 ± 0,02	192,67 ± 3,9	0,620 ± 0,05
	1:7:2	198,57 ± 4,20	0,564 ± 0,02	189,57 ± 5,9	0,265 ± 0,08
	1:6:3	206,40 ± 4,90	0,572 ± 0,05	300,67 ± 1,6	0,767 ± 0,04
2:8	2:7:1	239,13 ± 4,90	0,717 ± 0,04	197,83 ± 6,5	0,657 ± 0,05
	2:6:2	379,63 ± 16,5	0,643 ± 0,06	272,07 ± 19	0,563 ± 0,00
	2:5:3	283,27 ± 9,94	0,513 ± 0,03	299,43 ± 28	0,605 ± 0,02
Minyak: Smix	Formula O: T: P	100X		250X	
		Ukuran partikel (nm)	PDI	Ukuran partikel (nm)	PDI
		1:9	1:8:1	192,97 ± 3,80	0,598 ± 0,07
1:7:2	195,33 ± 7,27		0,583 ± 0,05	77,63 ± 0,55	0,400 ± 0,02
1:6:3	393,77 ± 18,30		0,845 ± 0,04	261,60 ± 21,20	0,538 ± 0,08
2:8	2:7:1	218,63 ± 2,40	0,765 ± 0,03	232,40 ± 21,10	0,548 ± 0,13
	2:6:2	298,30 ± 23,90	0,652 ± 0,06	327,13 ± 18,70	0,701 ± 0,03
	2:5:3	274,27 ± 28,90	0,575 ± 0,09	293,70 ± 11,80	0,519 ± 0,04

Berdasarkan data hasil pada Tabel 5 diperoleh hasil ukuran partikel dan PDI yang stabil pada formula 1:8:1 dan 1:7:2, sedangkan hasil ukuran partikel dan PDI yang tidak stabil pada formula 1:6:3, 2:7:1, 2:6:2, dan 2:5:3. Formula SNEDDS dikatakan stabil apabila memiliki ukuran partikel kurang dari 200 nm dan PDI 0,20-0,70 dengan ketahanan terhadap pengaruh pengenceran (Makadia *et al.*, 2013; Mao *et al.*, 2009). Beberapa faktor yang mempengaruhi ukuran partikel yaitu faktor yang disebabkan oleh panas disebabkan gaya gesek dan tekanan tinggi saat proses homogenisasi. Surfaktan non ionik untuk tipe emulsi *oil in water* (o/w) rentan pada suhu tinggi. Ketika terjadi peningkatan suhu, bagian hidrofilik dari molekul *emulsifier* ini akan menjadi semakin dehidrasi sehingga menyebabkan partikel emulsi rentan terhadap koalesen dan membuat ukuran partikel emulsi menjadi lebih besar (Kassem *et al.*, 2016).

Pada Tabel 5 nilai PDI yang terukur berkisar antara 0,3 hingga 0,8. Nilai PDI yang cukup besar ini dapat disebabkan karena kemampuan surfaktan yang tidak mampu membuat partikel yang seragam, faktor lainnya dapat disebabkan karena jenis homogenizer yang digunakan yaitu *high pressure homogenizer* yang merupakan jenis *homogenizer* yang menghasilkan nilai PDI yang cenderung lebih besar (Sriamornsak *et al.*, 2015).

Setelah dievaluasi ukuran partikel dan PDI, selanjutnya dilakukan pengukuran % transmittan. Nilai % transmittan dapat menggambarkan kemampuan emulsifikasi dari surfaktan (Anton & Vandamme, 2011). Pada Tabel 6 menunjukkan hasil bahwa semakin tinggi pengenceran, semakin tinggi nilai % transmittan. Formula yang memiliki nilai % transmittan yang cukup tinggi terdapat pada



formula 1:8:1, 1:7:2, dan 1:6:3 pada pengenceran 1:250. Semakin tinggi nilai % transmittan, semakin baik kemampuan surfaktan dalam proses emulsifikasi. Nilai % transmittan yang diperoleh kurang dari 90% dikarenakan larutan yang dihasilkan jernih dan sedikit *bluish*. Hal tersebut dikarenakan preparasi yang kurang tepat dari peneliti.

**Tabel. 6.** Hasil uji transmittan pada uji ketahanan (n=3)

Minyak: Smix	Formula O: T: P	Transmittan (%)			
		1:25	1:50	1:100	1:250
1:9	1:8:1	28,39 ± 0,08	44,18 ± 0,03	70,53 ± 0,01	80,62 ± 0,02
	1:7:2	40,09 ± 0,03	67,91 ± 0,01	61,34 ± 0,01	81,69 ± 0,01
	1:6:3	57,61 ± 0,00	58,86 ± 0,01	80,97 ± 0,02	91,59 ± 0,00
2:8	2:7:1	29,18 ± 0,01	36,15 ± 0,01	48,48 ± 0,01	61,49 ± 0,00
	2:6:2	24,96 ± 0,00	41,99 ± 0,01	53,59 ± 0,00	65,69 ± 0,01
	2:5:3	30,41 ± 0,00	24,26 ± 0,01	59,76 ± 0,01	35,24 ± 0,00

Dari 6 formulasi SNEDDS, diperoleh 2 formulasi optimal yang memiliki stabilitas yang baik dilihat dari stabilitas ukuran partikel dan PDI yaitu pada formula 1:8:1 dan 1:7:2. Formulasi optimal yang diperoleh kemudian dilakukan uji penyimpanan dipercepat selama 1 bulan untuk melihat stabilitas SNEDDS asam mefenamat pada penyimpanan dengan pengaruh suhu dan kelembaban.

### 3.8 Uji penyimpanan dipercepat

Uji ini dilakukan selama 1 bulan dengan suhu dan kelembaban yang disesuaikan ( $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\% \text{RH} \pm 5\% \text{RH}$ ) dengan menggunakan *climatic chamber*. Hasil dievaluasi pada minggu ke-0, 1, 2, 3, dan 4 yang meliputi evaluasi ukuran partikel, PDI, dan % transmittan. Dari pengujian ini diharapkan hasil uji penyimpanan dipercepat mendekati kriteria perubahan stabilitas yang signifikan. Hasil dari kondisi penyimpanan dipercepat dapat digunakan untuk mengevaluasi efek jangka pendek di luar kondisi penyimpanan yang tertera pada label (Anonim, 2013a).

Berdasarkan tabel 7 diperoleh ukuran partikel dan PDI yang stabil pada uji penyimpanan dipercepat. Uji dilakukan selama 1 bulan, dievaluasi pada minggu ke- 0, 1, 2, 3, dan 4. Ukuran partikel yang diperoleh kurang dari 200 nm dan nilai PDI 0,20-0,70, dapat dikatakan bahwa formula 1:8:1 dan 1:7:2 memiliki ukuran partikel dan PDI yang stabil terhadap penyimpanan dipercepat.

Evaluasi yang dilakukan selain ukuran partikel dan PDI yaitu evaluasi transmittan untuk melihat stabilitas formula dalam meneruskan cahaya yang ditembakkan dari spektrofotometri UV dimana nilai tersebut menggambarkan kemampuan proses emulsifikasi dari suatu surfaktan (Gupta *et al.*, 2011).

**Tabel 7.** Hasil uji stabilitas dipercepat (n= 3)

Minggu ke	Minyak: Smix (1:9)			
	1: 8: 1		1: 7: 2	
	Ukuran partikel (nm)	PDI	Ukuran partikel (nm)	PDI
0	86,07 ± 11,98	0,289 ± 0,17	68,30 ± 7,16	0,345 ± 0,09
1	53,67 ± 9,25	0,502 ± 0,07	67,93 ± 2,60	0,510 ± 0,01
2	139,5 ± 16,67	0,388 ± 0,03	142,7 ± 6,14	0,339 ± 0,08
3	143,97 ± 3,18	0,377 ± 0,04	152,9 ± 1,05	0,365 ± 0,03
4	167,37 ± 14,44	0,513 ± 0,09	173,07 ± 17,34	0,508 ± 0,08

Tinggi rendahnya nilai % transmittan yang diperoleh dapat mempengaruhi tingkat kejernihan sediaan. Berdasarkan Tabel 8 surfaktan memiliki kemampuan emulsifikasi yang cukup baik. Berdasarkan hasil evaluasi ukuran partikel, PDI, dan % transmittan pada uji penyimpanan dipercepat selama 1 bulan diperoleh 2 formulasi stabil yaitu formula 1:8:1 dan 1:7:2.

**Tabel 8.** Hasil uji transmittan pada uji stabilitas dipercepat

Minggu ke	Minyak: Smix (1:9)	
	1: 8: 1	1: 7: 2
0	80,16 ± 0,003	79,84 ± 0,004
1	80,47 ± 0,020	75,35 ± 0,005
2	83,31 ± 0,000	84,76 ± 0,004
3	81,15 ± 0,002	82,48 ± 0,004
4	88,42 ± 0,000	84,69 ± 0,008

### 3.9 Uji kadar SNEDDS asam mefenamat

Pengujian ini dilakukan untuk melihat apakah kadar asam mefenamat selama penyimpanan tetap stabil. Sediaan yang sudah disimpan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 284,8 nm, kemudian hasil absorbansi yang diperoleh dihitung kadarnya. Hasil kadar sediaan selama penyimpanan dibandingkan dengan sediaan yang masih baru. Nilai perolehan kembali kadar yang dapat diterima adalah 90% - 110% (Kemenkes, 2014). Penetapan kadar secara spektrofotometri dilakukan dengan menghitung antara respon absorbansi dari seri kadar (kurva baku) menggunakan persamaan regresi linear.

Dari Tabel 9 diperoleh kadar sediaan baru pada formula 1:8:1 dan 1:7:2 adalah sebesar 49,14 ± 0,1 mg/5 ml dan 47,27 ± 0,02 mg/5 ml dengan konsentrasi (%) 98,28 ± 0,2 dan 94,53 ± 0,04, sedangkan kadar sediaan lama pada formula 1:8:1 dan 1:7:2 adalah sebesar 49,10 ± 0,02 mg/5 ml dan 45,49 ± 0,03 mg/5 ml dengan konsentrasi (%) 98,20 ± 0,04 dan 90,98 ± 0,06.

**Tabel 9.** Hasil uji kadar SNEDDS asam mefenamat (N= 3)

Formula	Minyak: Smix			
	1:8:1		1:7:2	
	Kadar (mg / 5 ml)	Konsentrasi (%)	Kadar (mg / 5 ml)	Konsentrasi (%)
Baru	49,14 ± 0,10	98,28 ± 0,20	47,27 ± 0,02	94,53 ± 0,04
Lama	49,10 ± 0,02	98,20 ± 0,04	45,49 ± 0,03	90,98 ± 0,06

Berdasarkan hasil tersebut sediaan SNEDDS asam mefenamat dapat dikatakan memiliki stabilitas yang cukup baik karena hasil perolehan kembali kadar masih bisa diterima yaitu kisaran 90 – 110 % (Syukri *et al.*, 2015a).

#### 4. Kesimpulan

Studi stabilitas yang dilakukan pada uji sentrifugasi dari 9 formulasi SNEDDS asam mefenamat diperoleh 2 formula yang memenuhi rentang kadar 90-110%, sehingga dapat disimpulkan sediaan SNEDDS asam mefenamat memiliki stabilitas yang baik terhadap berbagai studi stabilitas yang dilakukan.

#### Ucapan terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia atas fasilitas dan bantuan bahan penelitian.

#### Daftar pustaka

- Anonim. (2013a). Asean Guideline on Stability Study of Drug Product. from asean.org
- Anonim. (2013b). Material safety data sheet ibuprofen MSDS. from ScienceLab
- Anton, N., & Vandamme, T. F. (2011). Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. *Pharm Res*, 28(5), 978-985. doi:10.1007/s11095-010-0309-1
- Chaudhary, S., Aqil, M., Sultana, Y., & Kalam, M. A. (2019). Self-nanoemulsifying drug delivery system of nabumetone improved its oral bioavailability and anti-inflammatory effects in rat model. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 736-745. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.04.009>
- Colombo, M., Melchiades, G. L., Figueiro, F., Battastini, A. M. O., Teixeira, H. F., & Koester, L. S. (2017). Validation of an HPLC-UV method for analysis of Kaempferol-loaded nanoemulsion and its application to in vitro and in vivo tests. *J Pharm Biomed Anal*, 145, 831-837. doi:10.1016/j.jpba.2017.07.046
- Gupta, S., Chavhan, S., & Sawant, K. K. (2011). Self-nanoemulsifying drug delivery system for adefovir dipivoxil: Design, characterization, in vitro and ex vivo evaluation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 392(1), 145-155. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.09.048>
- Istanti. (2016). *Preparasi dan karakterisasi sediaan SNEDDS asam mefenamat dengan fase minyak asam oleat*. (PharmB). Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Ito, A., Konnerth, C., Schmidt, J., & Peukert, W. (2016). Effect of polymer species and concentration on the production of mefenamic acid nanoparticles by media milling. *European Journal of*

- Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 98, 98-107.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.11.011>
- Jaiswal, M., Dudhe, R., & Sharma, P. K. (2015). Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech*, 5(2), 123-127. doi:10.1007/s13205-014-0214-0
- Kassem, A. A., Mohsen, A. M., Ahmed, R. S., & Essam, T. M. (2016). Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) with enhanced solubilization of nystatin for treatment of oral candidiasis: Design, optimization, in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Molecular Liquids*, 218, 219-232. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.02.081>
- Kemenkes. (2014). *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Kemenkes RI
- Makadia, H. A., Bhatt, A. Y., Parmar, R. B., Paun, J. S., & Tank, H. M. (2013). Self-nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS): Future Aspects. *Asian J Pharm Res*, 3(1), 7.
- Mao, L., Yang, J., Yuan, F., Gao, Y., & Zhao, J. (2009). Effects of Small and Large Molecule Emulsifiers on the Characteristics of  $\beta$ -Carotene Nanoemulsions Prepared by High Pressure Homogenization. *Food Technology and Biotechnology*, 47.
- Qamar, F. (2014). *Simple UV spectrophotometric assay of Mefenamic acid*.
- Sriamornsak, P., Limmatvapirat, S., Piriyaprasarth, S., Mansukmanee, P., & Huang, Z. (2015). A new self-emulsifying formulation of mefenamic acid with enhanced drug dissolution. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 121-127. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.10.003>
- Syukri, Y., Fernanda, L., Utami, F., Qiftayati, I., Kusuma, A., & Istikaharah, R. (2015a). Preparation and characterization of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes oral tablets containing poorly water soluble glimepiride using freeze drying method. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 26, 71. doi:10.14499/indonesianjpharm26iss2pp71
- Syukri, Y., Fitriani, H., Pandapotan, H., & Nugroho, B. (2019). Formulation, Characterization and Stability of Ibuprofen-Loaded Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). *INDONESIAN JOURNAL OF PHARMACY*, 30, 105. doi:10.14499/indonesianjpharm30iss2pp105-113
- Syukri, Y., Martien, R., Lukitaningsih, E., & Nugroho, A. E. (2018). Novel Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) of andrographolide isolated from *Andrographis paniculata* Nees: Characterization, in-vitro and in-vivo assessment. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47, 514-520. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.06.014>
- Syukri, Y., Nugroho, A., Martien, R., & Lukitaningsih, E. (2015b). Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Menggunakan HPLC. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2, 8-14. doi:10.29208/jsfk.2015.2.1.42
- Waterbeemd, H. V. D., Testa, B., Mannhold, R., Kubinyi, H., & Folkers, G. (2009). *Drug Bioavailability: Estimation of Solubility, Permeability, Absorption and Bioavailability* (2nd ed.).
- Weerapol, Y., Limmatvapirat, S., Nunthanid, J., & Sriamornsak, P. (2014). Self-nanoemulsifying drug delivery system of nifedipine: impact of hydrophilic-lipophilic balance and molecular structure of mixed surfactants. *AAPS PharmSciTech*, 15(2), 456-464. doi:10.1208/s12249-014-0078-y

## Solid dispersion of quercetin-PVP K-30 and its effects on the antioxidant activity

### Pembentukan dispersi padat kuersetin-PVP K-30 dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan

Zahara\*, Henny Lucida, Erizal Zaini

Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

\*Corresponding author: [rarashawol@gmail.com](mailto:rarashawol@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Quercetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyl-flavon) is a flavone and secondary metabolite known as flavonoid. Quercetin belongs to class II BCS that has low solubility and high permeability. The poor solubility of quercetin restricts the accessibility and bioavailability.

**Objectives:** To increase the solubility, dissolution, and antioxidant activity in a solid dispersion system.

**Methods:** Preparation of quersetin-PVP K-30 solid dispersion was conducted using the freeze-drying method at -96°C for 24 hours with a ratio of 1:1, 1:0.5, and 0.5:1 and a 1:1 physical mixture of quercetin-PVP K-30. The solid dispersion of quercetin-PVP K-30 was characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), X-Ray Diffraction (XRD) analysis, and FT-IR spectrophotometric analysis. Solubility test was analyzed using a UV-Vis spectrophotometer, dissolution test was done using a paddle-type dissolution tester, dissolved quercetin concentrations were analyzed using a UV-Vis spectrophotometer, and antioxidant activity was determined using the DPPH method in a UV-Vis spectrophotometer.

**Results:** SEM analysis showed the formation of quercetin-PVP K-30 solid dispersion using the freeze-drying method, and the form changed into anhydrate as seen from the XRD results with the presence of new crystalline peaks in solid dispersion, which were not seen in pure quercetin and PVP K-30. Quercetin-PVP K-30 solid dispersion could increase the solubility by 54-fold at a ratio of 0.5:1 with 94.36%±0.85 quercetin dissolved in 120 minutes. The formation of this solid dispersion affected the antioxidant activity which was observable from the IC<sub>50</sub> value at the best ratio of 0.5:1 reaching 0.714 µg/mL while the IC<sub>50</sub> value of pure quercetin is 1.102 µg/mL.

**Conclusion:** The formation of quercetin solid dispersion could increase the solubility and dissolution and affect the antioxidant activity.

**Keywords:** solid dispersion, freeze-drying, quercetin, antioxidant

#### Intisari

**Latar Belakang:** Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyl-flavon) adalah flavon dan merupakan metabolit sekunder yang dikenal dengan flavonoid. Kuersetin tergolong dalam BCS kelas II yaitu memiliki kelarutan rendah dan permeabilitas tinggi (*low solubility and high permeability drugs*), kelarutan kuersetin yang buruk membatasi aksesibilitas dan bioavailabilitasnya.

**Tujuan:** Untuk meningkatkan kelarutan dan disolusi kuersetin serta melihat pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan kuersetin.

**Metode:** Pembuatan dispersi padat menggunakan metode *freeze dry* pada suhu -96°C selama 24 jam.

**Hasil:** Dengan pembuatan dispersi padat kuersetin-PVP K-30 dapat meningkatkan kelarutan, disolusi dan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan kuersetin.

**Kesimpulan:** Uji statistik menggunakan ANOVA dua arah menunjukkan uji kelarutan dan disolusi pada pembentukan dispersi padat kuersetin-PVP K-30 terdapat perbedaan yang signifikan ( $p = 0,000$  (Sig<0,05)).

**Kata kunci:** dispersi padat, *freeze dry*, kuersetin, antioksidan

---

## 1. Pendahuluan

Aspek biofarmasetik dalam formulasi sediaan obat selalu dipengaruhi oleh faktor fisikokimia, salah satunya yaitu kelarutan. Kelarutan mempunyai peran penting dalam meramalkan derajat absorpsi obat dalam saluran cerna. Obat yang kelarutannya kecil dalam air (*poorly soluble drugs*) bioavailabilitasnya rendah serta disolusi rendah. Kuersetin termasuk kedalam BCS kelas II dimana kelarutannya rendah tetapi permeabilitasnya tinggi (*low solubility and high permeability drugs*) (Shargel *et al.*, 2012). Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) adalah flavon merupakan metabolit sekunder yang dikenal dengan flavonoid. Kuersetin dapat memberikan banyak efek seperti sebagai antioksidan (Dueñas *et al.*, 2010; Nuengchamnonng *et al.*, 2004), antikarsinogenik (Kumar *et al.*, 2014), antiinflamasi (Kleemann *et al.*, 2011), antibakteri (Rattanachaiakunsopon & Phumkhachorn, 2010), antivirus (Ganesan *et al.*, 2012), antiobesitas (Nabavi *et al.*, 2015), *Nephron-protector* (Lucida & Primadini, 2019).

Pembentukan dispersi padat dapat membantu meningkatkan kelarutan dan laju disolusi obat yang sukar larut air. Sistem dispersi padat merupakan sistem dispersi satu atau lebih zat aktif dalam pembawa yang inert atau matriks yang larut air dalam bentuk padat yang dipersiapkan dengan metoda peleburan, pelarutan, serta gabungan peleburan dan pelarutan. Pemilihan bahan pembawa juga mempengaruhi laju disolusi dari obat yang terdispersi. Pembawa yang larut air akan mempercepat pelepasan obat dari matriks, sedangkan pembawa yang sukar larut air akan memperlambat pelepasan dari matriks.

Beberapa penelitian untuk memperbaiki sifat fisikokimia kuersetin telah dilakukan seperti peningkatan kelarutan melalui pembentukan kompleks inklusi dengan  $\beta$ -Siklodekstrin (Syofyan *et al.*, 2008), peningkatan absorpsi dan bioavailabilitas melalui pembuatan sediaan nanofitosom (Rasaie *et al.*, 2014), pembuatan kuersetin dalam bentuk nanokristal (Lucida *et al.*, 2016; Sahoo *et al.*, 2011), pembuatan kuercetin-PVP K-25 dispersi padat (Costa *et al.*, 2011), peningkatan laju disolusi kuersetin dengan *nanofabrication, complexation*, dan dispersi padat (Kakran *et al.*, 2011), peningkatan laju disolusi secara *in vitro* dari kokristal kuersetin-asam malonat (Setyawan *et al.*, 2018). Identifikasi dan karakterisasi *solid binary sistem* kuersetin-nikotinamide (Zaini *et al.*, 2011). Penelitian ini merujuk kepada penelitian sebelumnya pembuatan dan karakterisasi dispersi padat-PVP K-30 dengan metode *spray dry* (Lucida & Primadini, 2019) dimana kelarutannya hanya meningkat 13 kali. Pada penelitian ini, kami akan melakukan pembentukan dispersi padat kuersetin-PVP K-30 dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan menggunakan *freeze dry* diharapkan dengan penggunaan *freeze dry* ini dapat meningkatkan kelarutan lebih tinggi dari metod *spray dry*.

## 2. Metodologi Penelitian

### 2.1 Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah desikator, ayakan 0,8 meshaluminium foil, timbangan digital analitik (Ohaus Carat series), alat uji disolusi (SR8 Plus Dissolution Test Station Hanson Virtual Instrument), dan alat-alat yang menunjang penelitian.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuersetin (Sigma Alderich, Jerman), PVP K-30 (Bratachem, Indonesia), Sodium buffer phosphate 0,1 M pH 7, Etanol (Merck, Jerman), Air suling bebas CO<sub>2</sub>, HCl 0,1 N, Metanol, DPPH.

### 2.2 Pembuatan dispersi padat metode freeze dry

Pembentukan dispersi padat pada Tabel 1. Dan pembuatan campuran fisik perbandingan 1:1. Masing-masing formula diitimbang dan dilarutkan di dalam labu dengan sodium buffer phospat 0,1 M pH 7 50 mL . Kemudian larutan sampel dibekukan dengan nitrogen cair dan dilanjutkan dengan proses *freeze dry* (Alpha 1-2 LD plus, CHIRST) pada suhu pengeringan -96°C selama 24 jam kemudian diayak dengan ayakan 08,8 mesh .

**Tabel 1.** Perbandingan Formula Serbuk Dispersi Padat (dalam mg)

Bahan	F I (1:1)	F II (1:0,5)	F III (0,5:1)
Kuersetin (mg)	1500	1500	750
PVP K-30 (mg)	1500	750	1500

### 2.3 Pengukuran penentuan panjang gelombang dan validasi metode analisis

Larutan induk dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin, dilarutkan masing-masing dengan air suling bebas CO<sub>2</sub>, dan HCl 0,1 N sampai 100 mL. Kemudian panjang gelombang maksimum diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1700) pada panjang gelombang 200-400nm.

Validasi metoda analisis dilakukan dalam bentuk kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi dibuat masing-masing dalam air suling bebas CO<sub>2</sub>, dan HCl 0,1 N. Kemudian serapannya diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum kuersetin didapat.

### 2.4 Analisis Scanning Electron Microscopy (SEM)

Sampel diletakkan pada holder alumunium dan dilapisi dengan paladium dengan ketebalan 10 mm. Sampel kemudian diamati berbagai perbesaran. Voltase diatur pada 20 kV arus 12 mA (SEM) (Hitachi S-3400N). Analisis ini akan memperlihatkan morfologi bentuk partikel senyawa tunggal kuersetin, PVP K-30, campuran fisik dan sistem dispersi padat kuersetin - PVP K-30 pada perbesaran 1000 - 3000.

### 2.5 Analisis X-ray Diffraction (XRD)

Analisis difraksi sinar-X serbuk sampel dilakukan pada suhu ruang dengan menggunakan difraktometer sinar-X (Philips X'Pert Powder DY 3688). Kondisi pengukuran sebagai berikut: target logam Cu, filter  $K\alpha$ , voltase 40 kV, arus 40 mA, kecepatan sudutnya  $4^\circ$ /menit dan analisis pengukuran pada rentang  $2\theta$   $5-65^\circ$ . Sampel diletakan pada sampel holder (kaca) dan diratakan untuk mencegah orientasi partikel selama penyiapan sampel. Analisis dilakukan terhadap kuersetin murni, PVP K-30, dispersi padat kuersetin – PVP K-30 dan campuran fisika.

### 2.6 Analisis spektrofotometri FT-IR

Dengan alat spektrofotometri (Perkin Elmer FTIR Spectrofotometer Frontier) Sampel diletakkan di atas kristal ATR hingga menutupi semua permukaan kristal. Sampel ditutup dengan memberikan sedikit tekanan dan spektrum serapan IR diambil untuk sampel kuersetin, PVP K-30, campuran fisik, dan dispersi padat kuersetin-PVP K-30.

### 2.7 Uji kelarutan

Uji kelarutan dilakukan pada kuersetin, campuran fisik dan formula dispersi padat yang dibuat menjadi larutan jenuh. Masing-masing formula ditumbang setara dengan 15 mg kuersetin, lalu dimasukkan ke dalam erlemeyer 100 mL. Kemudian tambahkan 100 mL air suling bebas CO<sub>2</sub>. Kemudian sampel disonikasi selama 15 menit dengan alat Elmasonic S 80 (H). Setelah itu sampel disaring dengan menggunakan kertas saring *Whatman* no. 42. Hasil saringan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1700).

### 2.8 Uji disolusi

Uji disolusi dispersi padat kuersetin, campuran fisik, dilakukan dengan menimbang setara dengan 50 mg kuersetin. Untuk uji disolusi dilakukan dengan alat *dissolution tester* (SR8 Plus Dissolution Test Station Hanson Virtual Instrument) tipe dayung. Sediaan ditimbang setara dengan 50 mg kuersetin. Labu diisi dengan medium disolusi HCl 0,1 N sebanyak 900 mL. Alat diputar dengan kecepatan pengadukan 100 rpm dengan suhu diatur pada  $37 \pm 0,5^\circ$  C. Setelah suhu tercapai, dimasukkan sejumlah sampel yaitu setara 50 mg kuersetin ke dalam labu disolusi. Larutan disolusi dipipet 5 mL pada menit ke 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 dan 120. Pada saat pemipetan diganti dengan medium disolusi (volume dan suhu yang sama pada saat pemipetan). Masing-masing larutan diuji menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

### 2.9 Uji antioksidan

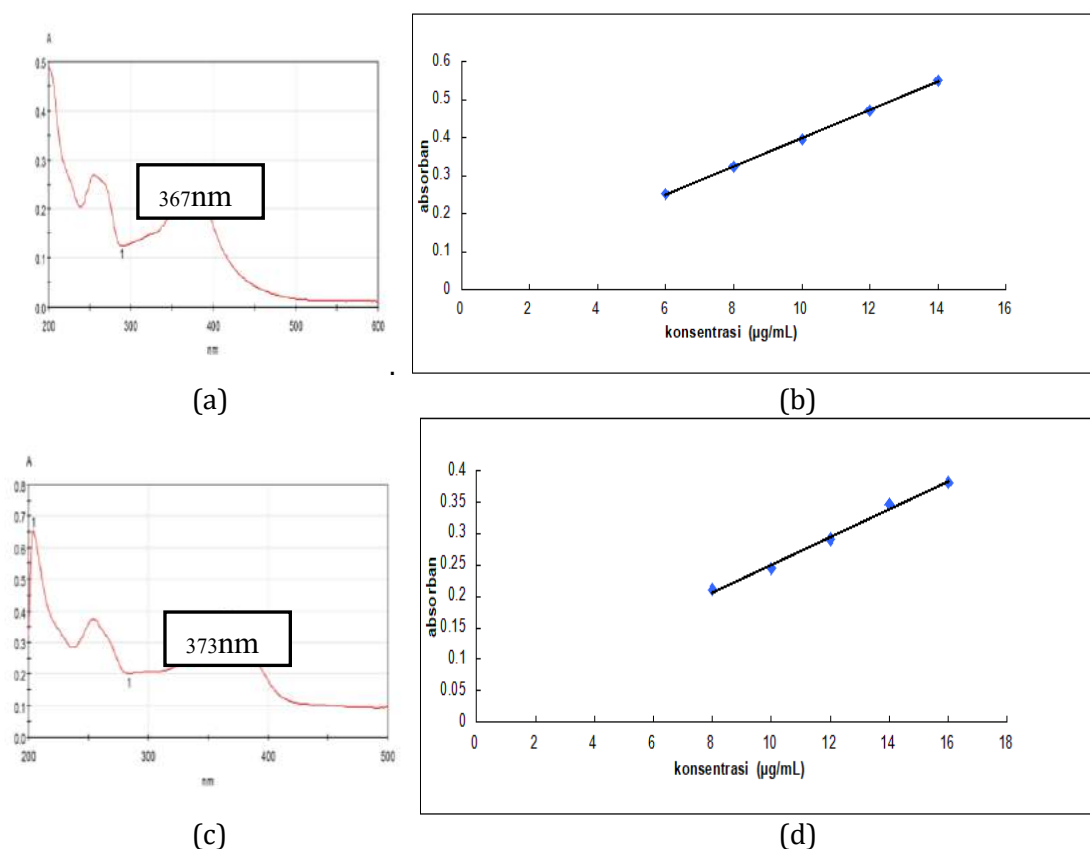
Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dimana panjang gelombang DPPH 517 nm dan dengan nilai absorban 0,781, dilakukan pada campuran fisik, dispersi padat dan kuersetin murni sebagai pembanding. Masing-masing formula dilarutkan dengan metanol:air dan masing-masing diperoleh konsentrasi 1,2,3,4,5 ppm kemudian pipet 0,2 mL dan direaksikan dengan 3,8 mL DPPH konsentrasi 35 ppm.



### 3. Hasil dan pembahasan

#### 3.1 Panjang gelombang kuersetin dan kurva kalibrasi kuersetin.

Panjang gelombang kuersetin dalam air suling bebas CO<sub>2</sub> dapat dilihat pada Gambar.1a didapatkan panjang gelombang serapan maksimum kuersetin dalam air suling bebas CO<sub>2</sub> sebesar 373 nm dan didapatkan persamaan regresi  $y = 0,037x + 0,026$  dengan nilai  $R = 0,999$  kurva kalibrasinya dapat dilihat pada Gambar. 1.b. Pengukuran panjang gelombang serapan maksimum kuersetin dalam HCl 0,1 sebesar didapatkan panjang gelombang 367 nm pada Gambar 1.c dan persamaan regresi  $y = 0,0222x + 0,0288$  dengan nilai  $R^2 = 0,996$  tersaji pada Gambar. 1.d.

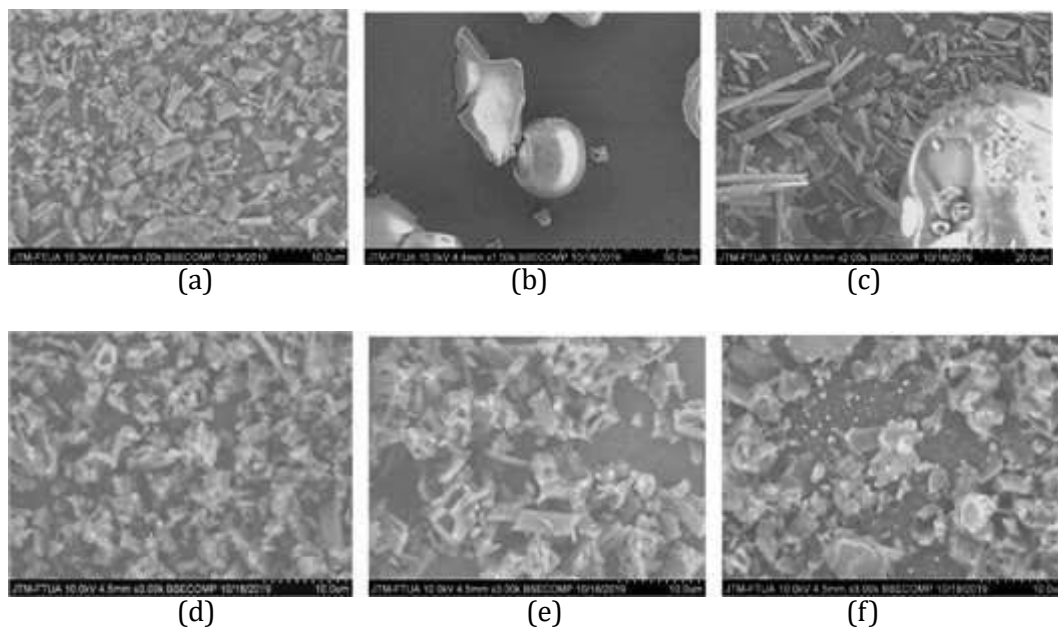


**Gambar 1.** Panjang gelombang serapan maksimum kuersetin dan kurva baku kuersetin

#### 3.2 Scanning Electrone Microscopy (SEM)

Hasil uji analisis dapat dilihat pada gambar 2. bahwa terjadi interaksi antara kuersetin dan PVP K-30 melalui teknik freeze dry yang dapat mempengaruhi morfologi masing-masing zat pada Gambar 2.d,f morfologinya sudah hampir sferis dan Gambar 2.e dimana masih terlihat beberapa habit kuersetin karena perbandingan kuersetin lebih banyak dari PVP K-30. Dimana pada Gambar 2.a kuersetin terlihat seperti kristal batang dan Gambar 2,b PVP K-30 morfologi permukaan yang licin, pada Gambar 2.c belum terjadi interaksi terlihat dari habit kuersetin dan

PVP K-30 masih jelas terlihat. Hasil morfologi menggunakan *metode freeze dry* lebih besar dibandingkan dengan hasil morfologi pada penelitian dispersi padat kuersetin-PVP k-30 metode *spray dry* (Lucida *et al.*, 2019) morfologinya lebih sferis.

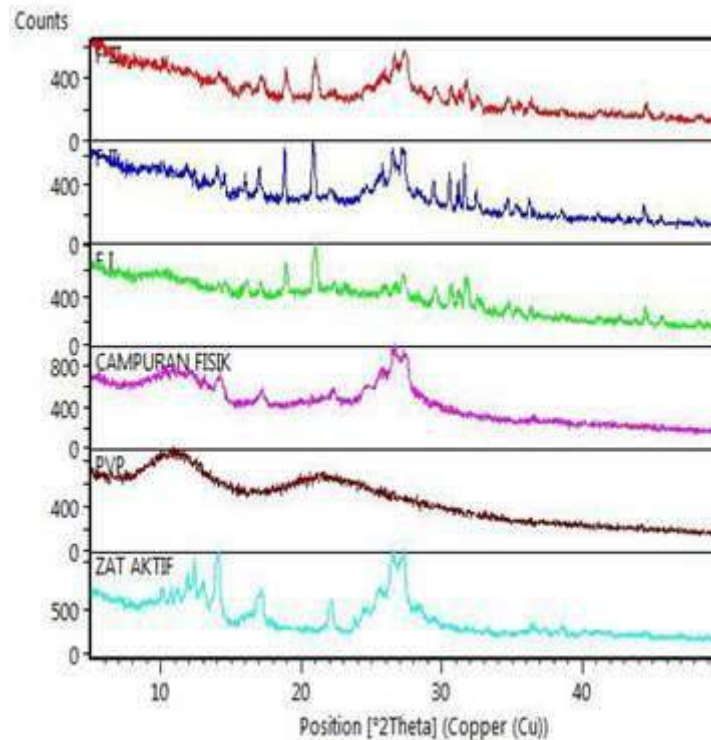


**Gambar 2.** Menunjukkan permukaan sampel (a) kuersetin 3000 x (b) PVP K-30 1000 x (c) campuran fisik 2000 x (d) formula I 3000 x (e) formula II 3000 x (f) formula III 3000 x

### 3.3 Analisis pola X-ray Diffraction (XRD)

Fase padat kuersetin menunjukkan padatan kristalin karena bentuk difraktogram dan menunjukkan puncak interferensi yang khas dan tajam pada sudut  $2\theta$  dapat dilihat pada Gambar 3 yaitu 12,133; 14,087; 17,129; 22,121; 26,515; 27,295 dengan nilai intensitas 666,131; 1039,245; 639,567; 550,599; 1073,247; 1104,416. Sedangkan PVP K-30 tidak terdapatnya puncak yang khas dan tajam, sehingga dapat diamati PVP K-30 memiliki sifat amorf. Difraktogram sinar-X campuran fisika, merupakan super imposisi antara kedua komponen pembentuknya. Difraktogram sinar-X padatan hasil interaksi antara kuersetin-PVP K-30 memiliki pola difraksi yang berbeda dengan campuran fisika, kuersetin dan PVP K-30 terjadi penurunan derajat kristalinitas pada posisi  $2\theta$ , dan munculnya puncak-puncak kristal baru pada kuersetin yang terlihat pada sudut  $2\theta$  17,129; 18,949; 31,689; 32,677; 34,809; 41,257; 45,720 yang tidak terdapat pada kuersetin murni, PVP K-30 dan campuran fisik. Hal ini mengindikasikan bahwa sistem dispersi padat antara kuersetin dan PVP K-30 menghasilkan fase kristalin baru (senyawa molekular) atau diduga terjadinya perubahan dari anhidrat menjadi hidrat dimana munculnya puncak-puncak tajam yang menunjukkan adanya kristal yang terjadi karena pelarut atau air yang digunakan masuk kedalam kisi-kisi kristal dari kuersetin dan proses pembekuan maka terjadilah interaksi sehingga muncul puncak kristal

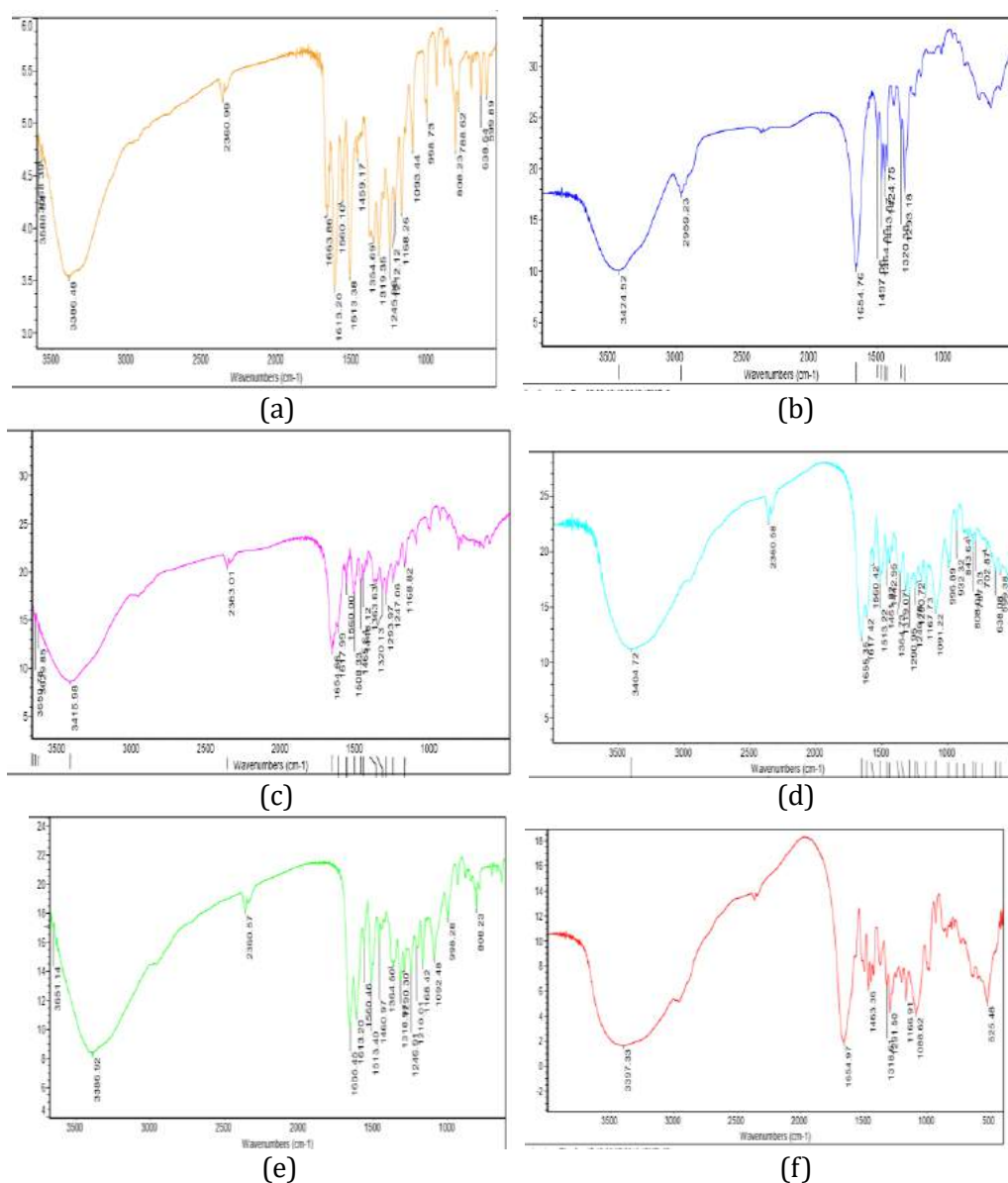
baru. Perubahan ukuran dan struktur kristal mengubah karakteristik termodinamika dan luas permukaan kristal sehingga dapat menyebabkan perubahan profil disolusi dan farmakokinetika dari bahan aktif.



**Gambar 3.** Difraktogram sinar-X gabungan kuersetin, PVP K-30, campuran fisik, dispersi padat kuersetin-PVP K-30

### 3.4 Analisis spektrofotometri FT-IR

Hasil karakterisasi pada spektrofotometri inframerah kuersetin Gambar 4.a, menunjukkan puncak yang lebar pada bilangan gelombang 3386,48 pada gugus fungsi, gugus fungsi C-H pada bilangan gelombang 2360,99  $\text{cm}^{-1}$ , gugus fungsi C=O pada bilangan gelombang 1663,86  $\text{cm}^{-1}$ , gugus fungsi C-O-C pada bilangan gelombang 1319,35  $\text{cm}^{-1}$ . Spektrum PVP K-30 Gambar 4.b, juga menunjukkan puncak yang lebar pada bilangan gelombang 3424,52  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus fungsi O-H. Puncak lain pada bilangan gelombang 1654,76  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya ikatan C=O, dan pada bilangan gelombang 1654,76  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya ikatan C-H. Golongan fenolik kuersetin mampu membentuk ikatan hidrogen dengan kelompok C=O PVP yang memiliki peran kuersetin untuk didispersikan ke dalam matriks PVP dan menyimpannya dalam bentuk amorf. Hasil ini sesuai dengan laporan sebelumnya tentang pembentukan ikatan hidrogen dari naringenin dan hesprepetin aglycones dengan PVP, yang menghasilkan peningkatan kelarutan, dan laju disolusi.



**Gambar 4.** (a) Kuersetin (b) PVP K-30 (c) campuran fisik (d) formula I (e) formula II (f) formula III

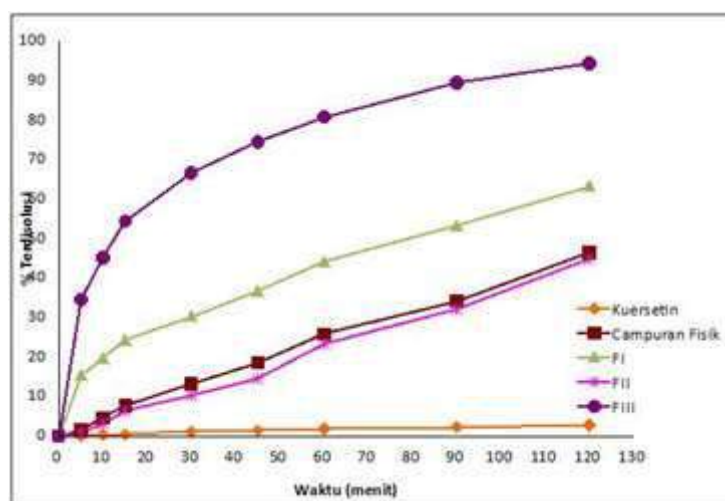
### 3.5 Uji kelarutan

Berdasarkan hasil uji kelarutan, terjadi peningkatan kelarutan kuersetin pada campuran fisik sebesar 22 kali, dispersi padat formula I peningkatan kelarutan 42 kali, peningkatan kelarutan formula II 20 kali, dan formula III terjadi peningkatan kelarutan sebesar 54 kali, pada formula III terjadinya peningkatan kelarutan paling tinggi. Peningkatan kelarutan terjadi karena adanya penambahan polimer hidrofilik PVP K-30 akan meningkatkan kelarutan dan keterbasahan kuersetin. Kelarutan dan stabilitas hidrat dapat berbeda secara signifikan, perbedaan-perbedaan ini dianggap berasal dari variasi dalam struktur kristalnya (Sheng *et al.*, 1999) dan juga terjadinya ikatan hidrogen akan mempermudah putusnya ikatan antar molekul saat kontak dengan air sehingga kelarutan meningkat. Hasil kelarutan juga didukung dari analisis difraksi sinar-X juga menunjukkan bahwa derajat rekristalinitas dispersi padat

menurun. Peningkatan kelarutan kuersetin-PVP K-30 metode *freeze dry* lebih tinggi daripada pembuatan dispersi padat kuersetin-PVP K-30 metode *spray dry* karena perubahan bentuk anhidrat menjadi hidrat dari metode *freeze dry* dapat mempengaruhi kenaikan kelarutan kuersetin.

### 3.6 Uji disolusi

Profil disolusi kuersetin, campuran fisik dan dispersi padat pada Gambar 5 menunjukkan menit ke-5, menit 60, dan menit 120 dalam kuersetin murni secara berturut-turut adalah  $0,09\% \pm 0,08$ ;  $1,76\% \pm 0,25$ ;  $2,73\% \pm 0,24$ , % rata-rata kuersetin yang terdisolusi pada menit ke-5, menit 60, dan menit 120 dalam campuran fisik secara berturut-turut adalah  $1,44\% \pm 0,12$ ;  $25,83\% \pm 0,33$ ;  $46,48\% \pm 0,16$ , % rata-rata kuersetin yang terdisolusi pada menit ke-5, menit 60, dan menit 120 dalam dispersi padat formula I secara berturut-turut adalah  $15,28 \pm 0,16$ ;  $44,11 \pm 0,28$ ;  $63,24 \pm 0,20$ , % rata-rata kuersetin yang terdisolusi pada menit ke-5, menit 60, dan menit 120 dalam formula II secara berturut-turut adalah  $0,96 \pm 0,12$ ;  $23,32 \pm 0,29$ ;  $44,70 \pm 0,21$ , % rata-rata kuersetin yang terdisolusi pada menit ke-5, menit 60, dan menit 120 dalam formula III secara berturut-turut adalah  $34,47 \pm 0,29$ ;  $80,76 \pm 1,07$ ;  $94,36 \pm 0,85$  dan peningkatan % terdisolusi kuersetin dalam Pembentukan dispersi padat pada formula III merupakan yang paling tinggi ini berbanding lurus dengan nilai kelarutan dimana kelarutan yang tertinggi pada formula III. Kelarutan mempengaruhi laju disolusi dimana obat-obat yang mempunyai kelarutan kecil dalam air (*poorly soluble drugs*) maka ketersediaan hayati dan kecepatan disolusi nya juga rendah (Shargel *et al.*, 2012).



**Gambar 5.** Profil disolusi kuersetin, campuran fisik dan dispersi padat

### 3.7 Aktivitas antioksidan

Hasil yang didapatkan aktivitas antioksidan pada kuersetin, campuran fisik, dispersi padat formula I, formula II, formula III memiliki nilai nilai  $IC_{50}$  secara berurutan adalah adalah 1,102

$\mu\text{g/mL}$ , 0,904  $\mu\text{g/mL}$ , 0,846  $\mu\text{g/mL}$ , 0,996  $\mu\text{g/mL}$ , 0,714  $\mu\text{g/mL}$ . Semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Dari hasil uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pembentukan dispersi padat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai kelarutan maka semakin baik nilai  $\text{IC}_{50}$  dimana (Costa *et al.*, 2011) telah melaporkan dengan pembentukan dispersi padat kuersetin-PVP K-25 dengan perbandingan 108:1 dapat meningkatkan kelarutan 436 kali dan pada uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai  $\text{IC}_{50}$  0,61  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 4. Kesimpulan

Terbentuknya dispersi padat kuersetin-PVP K-30 yang telah dianalisis dengan SEM dimana kuersetin dan PVP telah berbentuk hampir sferis dan terdispersi, perubahan bentuk hidrat dimana masuknya molekul air kedalam kisi-kisi kristal kuersetin yang menyebabkan munculnya puncak baru yang dilihat dari analisis X-RD pada dispersi padat formula I, II, III yang tidak terdapat pada kuersetin murni, PVP dan campuran fisik yang menyebabkan peningkatan kelarutan dan laju disolusi serta berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang dapat dilihat dari nilai  $\text{IC}_{50}$  yang lebih baik. Dari hasil FT-IR dapat dilihat pembentukan dispersi padat kuersetin-PVP K-30 tidak terjadi interaksi kimia dimana tidak terjadi pergeseran panjang gelombang yang signifikan dan masih dalam rentang.

#### Daftar pustaka

- Costa, E. M., Marquiafavel, F. S., Vaz, M. O., & Bueno, P. B. (2011). Thermal Characterization of the Quercetin and Rutin Flavonoids. *J Therm Anal Calorim*, 104, 6.
- Dueñas, M., González-Manzano, S., González-Paramás, A., & Santos-Buelga, C. (2010). Antioxidant Evaluation of O-methylated Metabolites of Catechin, Epicatechin and Quercetin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 443-449. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.04.007>
- Ganesan, S., Faris, A. N., Comstock, A. T., Wang, Q., Nanua, S., Hershenson, M. B., & Sajjan, U. S. (2012). Quercetin Inhibits Rhinovirus Replication In Vitro and In Vivo. *Antiviral Res*, 94(3), 258-271. doi:10.1016/j.antiviral.2012.03.005
- Kakran, M., Sahoo, N. G., & Li, L. (2011). Dissolution Enhancement of Quercetin Through Nanofabrication, Complexation, and Solid Dispersion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 88(1), 121-130. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.06.020>
- Kleemann, R., Verschuren, L., Morrison, M., Zadelaar, S., Erk, M., Wielinga, P., & Kooistra, T. (2011). Anti-inflammatory, Anti-proliferative and Anti-atherosclerotic Effects of Quercetin in Human In Vitro and In Vivo Models. *Atherosclerosis*, 218, 44-52. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.023
- Kumar, S. R., Priyatharshni, S., Babu, V. N., Mangalaraj, D., Viswanathan, C., Kannan, S., & Ponpandian, N. (2014). Quercetin Conjugated Superparamagnetic Magnetite Nanoparticles for In-vitro Analysis of Breast Cancer Cell Lines for Chemotherapy Applications. *J Colloid Interface Sci*, 436, 234-242. doi:10.1016/j.jcis.2014.08.064
- Lucida, H., Agustin, P., & S, S. (2019). The Assay of Quercetin Solid Dispersion as a Potential Nephronprotector in Acute Renal Failure Induced Mice. *Pharmacognosy Journal*, 11, 907-912. doi:10.5530/pj.2019.11.145

- Lucida, H., Febriyenti, F., Pradana, R., & Rahmatika, L. (2016). Preparation of Quercetin Nanocrystals by Planetary Ball Mill to Increase the Solubility and the Dissolution Profile. *8*, 53-58.
- Lucida, H., & Primadini, Y. (2019). A Study on the Acute Toxicity of Quercetin Solid Dispersion as a Potential Nephron-Protector. *Rasayan Journal of Chemistry*, *12*, 727-732. doi:10.31788/RJC.2019.1224068
- Nabavi, S. F., Russo, G. L., Daglia, M., & Nabavi, S. M. (2015). Role of Quercetin as an Alternative for Obesity Treatment: You Are What You Eat! *Food Chem*, *179*, 305-310. doi:10.1016/j.foodchem.2015.02.006
- Nuengchamnon, N., Hermans-Lokkerbol, A., & Ingkaninan, K. (2004). Separation and Detection of the Antioxidant Flavonoids, Rutin and Quercetin, Using HPLC Coupled on-line With Colorimetric Detection of Antioxidant Activity. *Naresuan University Journal*, *12*, 25-37.
- Rasaie, S., Ghanbarzadeh, S., Mohammadi, M., & Hamishehkar, H. (2014). Nano Phytosomes of Quercetin: A Promising Formulation for Fortification of Food Products with Antioxidants. *Pharmaceutical sciences*, *20*, 96-101.
- Rattanachaiakunsopon, P., & Phumkhachorn, P. (2010). Contents and Antibacterial Activity of Flavonoids Extracted from Leaves of Psidium Guajava. *Journal of Medicinal Plants Research*, *4*, 393-396.
- Sahoo, N. G., Kakran, M., Shaal, L. A., Li, L., Müller, R. H., Pal, M., & Tan, L. P. (2011). Preparation and Characterization of Quercetin Nanocrystals. *J Pharm Sci*, *100*(6), 2379-2390. doi:10.1002/jps.22446
- Setyawan, D., Lestari, M., Permata, S., & Zainul, A. (2018). Improvement In Vitro Dissolution Rate of Quercetin Using Cocrystallization of Quercetin-Malonic Acid. *Indonesian Journal of Chemistry*, *18*, 531-536. doi:10.22146/ijc.28511
- Shargel, L., Yu, A. B. C., & Wu-pong, S. (2012). *Biofarmasetika dan farmakokinetika terapan* (Fasich & S. Sjamsiah, Trans.). Surabaya: Airlangga University Press.
- Sheng, J., Venkatesh, G. M., Duddu, S. P., & Grant, D. J. W. (1999). Dehydration Behavior of Eprosartan Mesylate Dihydrate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *88*(10), 1021-1029. doi:<https://doi.org/10.1021/js9900250>
- Syofyan, Lucida, H., & Bakhtiar. (2008). Kelarutan Quercetin Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan  $\beta$ -siklodekstrin. *J Sains dan Teknol Farm*, *13*(2), 6.
- Zaini, E., Halim, A., Soewandhi, S. N., & Setyawan, D. (2011). Peningkatan Laju Pelarutan Trimetoprim Melalui Metode Ko-kristalisasi dengan Nikotinamida *Jurnal Farmasi Indonesia*, *5*, 8.

## Selenium species in vegetables: benefits and toxicity for the body

### Spesies Selenium pada sayuran: manfaat dan toksisitasnya pada tubuh

Alya Luthfiyani Heryadi, Ayu Shalihah, Rimadani Pratiwi, Mutakin\*

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

\*Corresponding author: [mutakin@unpad.ac.id](mailto:mutakin@unpad.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** Selenium is one of the essential trace elements in various biological body functions. The main source of Selenium in the body is food, one of which is vegetables. Vegetables collect Selenium from the soil which is then converted into various chemical species of Selenium. Such species should be recognized since each has different biological activities.

**Objective:** The aim of this review was to identify chemical species of Selenium in vegetables as well as the benefits and toxicity for the body.

**Methods:** Reference searches were done in Pubmed and Google Scholar databases with the keywords "Selenium speciation in plants", "selenite", "selenate", "selenomethionine", "selenocystine", and "selenomethylselenocysteine"

**Results:** The results of speciation in several types of vegetables showed that the chemical species of Selenium abundantly found in vegetables were selenomethionine (SeMet), selenocystine (SeCys<sub>2</sub>) and selenomethylselenocysteine (Se-MeSeCys),  $\gamma$ -glutamyl-Se-methyl-selenocysteine, and inorganic species. Both Selenium-enriched vegetables and the species contained therein have a variety of benefits for the body. However, excessive consumption can also cause toxic effects.

**Conclusion:** The chemical species of Selenium in vegetables can be either organic or inorganic. Both types of species have different benefits and toxic effects.

**Keywords:** benefits, chemical species, Selenium, toxicity, vegetable

#### Intisari

**Latar belakang:** Selenium merupakan salah satu *trace element* esensial yang penting pada berbagai fungsi biologi tubuh. Sumber utama Selenium dalam tubuh adalah makanan, salah satunya yaitu sayuran. Sayuran mendapatkan Selenium dari tanah yang kemudian diubah menjadi berbagai spesies kimia Selenium. Spesies kimia Selenium penting untuk diketahui karena setiap spesies memiliki aktivitas biologi yang berbeda

**Tujuan:** *Review* ini ditujukan untuk mengetahui spesies kimia Selenium yang terdapat pada sayuran serta manfaat dan toksisitasnya bagi tubuh

**Metode:** Penelusuran referensi dilakukan melalui database *Pubmed* dan *Google Scholar*, dengan kata kunci "*Selenium speciation in plant*", "*selenite*", "*selenate*", "*selenomethionine*", "*selenocystine*", dan "*selenomethylselenocysteine*"

**Hasil:** Hasil spesiasi pada beberapa sayuran menunjukkan spesies kimia Selenium yang banyak terdapat dalam sayuran adalah *selenomethionine* (SeMet), *selenocystine* (SeCys<sub>2</sub>), dan *Se-methylselenocysteine* (Se-MeSeCys),  $\gamma$ -*glutamyl-Se-methyl-selenocysteine*, dan spesies anorganik. Baik sayuran yang diperkaya Selenium maupun spesies yang terkandung di dalamnya memiliki berbagai manfaat bagi tubuh. Namun konsumsi yang berlebih juga dapat menyebabkan efek toksik

**Kesimpulan:** Spesies kimia Selenium yang terdapat pada sayuran dapat berupa spesies organik maupun spesies anorganik. Kedua jenis spesies ini memiliki manfaat serta efek toksik yang berbeda

**Kata kunci :** manfaat, sayuran, Selenium, spesies kimia, toksisitas

---



## 1. Pendahuluan

Selenium (Se) merupakan *trace element* esensial yang penting untuk berbagai fungsi biologi seperti metabolisme hormon tiroid, sistem pertahanan antioksidan tubuh, pencegah kanker tertentu dan sistem kardiovaskular (Benstoem *et al.*, 2015). Selenium merupakan komponen penting dari enzim antioksidan seperti *glutathione peroxidase* (GPx) dan *thioredoxin reductase* (TrxR) serta selenoprotein P yang berfungsi dalam penyimpanan dan transportasi Selenium (Kielczykowska *et al.*, 2018). Rekomendasi asupan Se tergantung dari usia serta kondisi dari setiap individu. *Recommended Dietary Allowance* (RDA) untuk pria dan wanita dewasa menurut Institute of Medicine (2000) adalah 55 µg/hari. Kekurangan asupan Selenium yang parah dapat menyebabkan penyakit yang disebut Keshan dan Kashin-Beck (Stoffaneller & Morse, 2015). Namun, kelebihan asupan Se juga dapat menyebabkan efek toksik bagi tubuh. Level tertinggi asupan Se yang kemungkinan tidak menimbulkan efek resiko bagi kesehatan adalah 400 µg Se/hari (Anonim, 2000). Makanan, salah satunya yaitu sayuran, merupakan sumber utama asupan Se (Thiry *et al.*, 2013). Sayuran merupakan sumber antioksidan dan senyawa nutrasetikal yang penting bagi manusia (El-Ramady *et al.*, 2014). Biofortifikasi Se pada makanan seperti pada sayuran dapat membantu mengatasi kekurangan asupan Se serta meningkatkan nilai nutrisi pada makanan (D'Amato *et al.*, 2020).

Kandungan Se dalam tanaman sangat tergantung pada jumlah Se dalam tanah yang bervariasi di setiap daerah dan juga tergantung pada kemampuan tanaman untuk mengambil dan mengakumulasi Se (Thiry *et al.*, 2013). Tanaman menggunakan S transporter dan jalur metabolik untuk mengambil Selenium anorganik (selenit dan selenat) yang terdapat di dalam tanah, kemudian diasimilasi menjadi Selenium organik *selenocysteine* (SeCys) dan *selenomethionine* (SeMet) yang selanjutnya dimetilasi dan disimpan dalam bentuk methyl-SeCys atau methyl-SeMet dan dikonversi menjadi senyawa volatil dimethylselenide (DMSe) atau dimethyldiselenide (DMDS<sub>2</sub>) (Schiavon & Pilon-Smits, 2017).

Spesies kimia dari Selenium ini penting untuk diketahui karena setiap spesies kimia akan dimetabolisme dengan cara yang berbeda di dalam tubuh, sehingga akan memiliki aktivitas biologi yang berbeda pula (Weekley & Harris, 2013). Toksisitas Selenium juga tergantung pada jenis spesies kimianya (Yang & Jia, 2014). Maka dari itu, tujuan dari *review* ini adalah untuk mengetahui berbagai spesies Selenium yang terdapat pada sayuran serta manfaat dan toksisitasnya bagi tubuh.

## 2. Metodologi penelitian

Metode yang digunakan dalam *review* ini yaitu penelusuran pustaka dari berbagai jurnal internasional. Pencarian dilakukan pada database *Pubmed* dan *Google Scholar*, dengan kata kunci "*Selenium speciation in plant*", "*selenite*", "*selenate*", "*selenomethionine*", "*selenocystine*", dan

"*Se-methylselenocysteine*". Artikel yang disitasi adalah artikel yang ditulis 10 tahun terakhir. Kriteria artikel yang digunakan berisi mengenai analisis identifikasi spesies kimia Selenium pada sampel sayuran, analisis aktivitas sayuran yang diperkaya Selenium, analisis aktivitas spesies Selenium yang dapat diterapkan pada manusia, serta analisis toksisitas spesies Selenium yang dapat diterapkan pada manusia.

### 3. Hasil dan pembahasan

#### 3.1 Kandungan dalam sayuran

Tabel 1 menunjukkan hasil spesiasi Selenium pada berbagai jenis sayuran. Pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa spesies Selenium organik yang umum terdapat pada sayuran adalah *selenomethionine* (SeMet), *selenocystine* (SeCys<sub>2</sub>), dan *Se-methylselenocysteine* (Se-MeSeCys). Ada pula *γ-Glutamyl-Se-methyl-selenocysteine* yang terdapat pada beberapa sayuran terutama genus *Allium*. Jumlah spesies Selenium terbanyak pada setiap sayuran berbeda tergantung dari spesies tanamannya. Pada tanaman genus *Brassica* seperti brokoli (*Brassica oleracea* convar. *italica*) dan pakchoi (*Brassica chinensis* var *parachinensis*), Se-MeSeCys terdapat dalam jumlah yang lebih banyak daripada SeMet (Thosaikham *et al.*, 2014). Sedangkan pada bawang perai (*Allium ampeloprasum*), SeMet lebih dominan dibandingkan Se-MeSeCys (Lavu *et al.*, 2012).

Jumlah spesies Selenium anorganik, yaitu selenit (Se(IV)) dan selenat (Se(VI)) dipengaruhi oleh jenis Selenium yang ditambahkan sebelum dilakukan spesiasi. Pada penelitian yang dilakukan H. Zhang, *et al.* (2019), dilakukan dua cara fertilisasi pada kentang yang diperkaya Selenium yaitu dengan penambahan selenit dan selenat. Hasil spesiasi menunjukkan bahwa pada pemberian selenit, spesies selenit tidak terdeteksi dan jumlah Se organik sekitar 96,9-100%. Sedangkan pada pemberian selenat, jumlah Se organik hanya sekitar 57,2% dan sisanya merupakan selenat. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan fertilisasi menggunakan selenit lebih baik daripada menggunakan selenat karena jumlah Se anorganik yang lebih sedikit.

Pada penanaman dengan menggunakan media tanah, selain jumlah Se anorganik yang lebih banyak, jumlah Se organik juga lebih banyak pada pemberian selenat daripada pemberian selenit. Hal ini dapat disebabkan karena selenit lebih sedikit tersedia di alam dibanding selenat dan lebih kuat diserap oleh besi oksida atau hidroksida, sedangkan selenat lebih larut dalam air. Selain itu, pengambilan selenat dalam tanah mengikuti jalur transporter sulfur, sedangkan selenit tidak tergantung pada proses metabolisme (Lavu *et al.*, 2012).

Selain empat spesies organik yang umum terdapat pada sayuran, masih terdapat spesies Selenium lain yang tidak teridentifikasi pada saat spesiasi. Seperti pada spesiasi brokoli oleh Šindelářová, *et al.* (2015), hasil spesiasi menggunakan ICP-MS menunjukkan adanya 17 spesies yang berbeda, tetapi hanya 4 spesies yang teridentifikasi. Hal ini disebabkan karena tidak adanya standar dari spesies kimia tersebut. Maka, pada pengujian bawang putih yang dilakukan

oleh Rusczyńska, *et al.* (2017), digunakan HPLC-ESI-Orbitrap-MS/MS untuk mengetahui spesies Selenium yang tidak teridentifikasi. Dari hasil pengujian tersebut didapatkan spesies Selenium lainnya, yaitu *selenohomolanthionine*, *selenomethionine oxide*, *deaminohydroxy-selenohomolanthionine*, *N-acetylcysteine-selenomethionine*, *methylseleno-Se-pentose-hexose*, dan *Se-methyl-selenoglutathione*.

**Tabel 1.** Spesies Selenium pada sayuran

Nama tanaman	Spesies Selenium						Pustaka
	Se(IV)	Se(VI)	SeMet	SeCys <sub>2</sub>	Se-MeSeCys	γ-Glu-Se-MeSeCys	
Brokoli ( <i>Brassica oleracea</i> convar. <i>italica</i> )	-	+	+	+	+	-	(Sindelarova <i>et al.</i> , 2015)
Pakchoi ( <i>Brassica chinensis</i> var <i>parachinensis</i> )	-	+	+	-	+	-	(Thosaikham <i>et al.</i> , 2014)
Kubis ( <i>Brassica oleracea</i> )	+	+	+	+	-	-	(Funes-Collado <i>et al.</i> , 2015)
Selada ( <i>Lactuca sativa</i> L.)	+	+	+	+	-	-	(do Nascimento da Silva <i>et al.</i> , 2017)
Bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L.)	+	-	+	-	+	+	(Rusczyńska <i>et al.</i> , 2017)
Bawang merah ( <i>Allium cepa</i> )	+	+	+	+	+	+	(Kápolna <i>et al.</i> , 2012)
Bawang perai ( <i>Allium ampeloprasum</i> )	+	+	+	+	+	+	(Lavu <i>et al.</i> , 2012)
Kentang ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	+	+	+	+	+	-	(H. Zhang <i>et al.</i> , 2019)
Wortel ( <i>Daucus carota</i> )	+	+	+	+	+	+	(Bañuelos <i>et al.</i> , 2016; Kápolna <i>et al.</i> , 2012)
Jagung ( <i>Zea mays</i> L.)	-	-	+	+	+	-	(Z. Zhang <i>et al.</i> , 2019)

Keterangan:

(+) mengandung spesies Selenium; (-) tidak mengandung spesies Selenium

Singkatan:

Se(IV) = *selenite*; Se(VI) = *selenate*; SeMet = *selenomethionine*; SeCys<sub>2</sub> = *selenocystine*; Se-MeSeCys = *Se-methylselenocysteine*; γ-Glu-Se-MeSeCys = *γ-Glutamyl-Se-methyl-selenocysteine*

Dari berbagai jenis sayuran yang diteliti, sayuran dari genus *Brassica* dan *Allium* memiliki kemampuan yang baik dalam akumulasi Se karena tumbuhan ini mengandung lebih banyak fraksi asam amino yang mengandung sulfur serta mengandung senyawa sulfur lainnya seperti glikosinolat atau sulfoksida. Brokoli dan bawang putih juga dapat mengakumulasi Se tanpa menimbulkan perubahan pada pertumbuhan tanaman serta tidak mengubah jumlah dari cysteine, glutathione, total glukosinolat serta senyawa lain. Hal ini menunjukkan kedua sayuran ini memiliki kemampuan yang lebih besar untuk digunakan dalam biofortifikasi Se (Hsu *et al.*, 2011; Pérez *et al.*, 2019).

### 3.2 Manfaat spesies Selenium yang terkandung dalam sayuran

Biofortifikasi Se pada sayuran dapat digunakan sebagai alternatif suplementasi Se (Amato *et al.*, 2017). Selain itu, didapatkan juga manfaat lain seperti pada penelitian yang dilakukan Pöldma, penambahan Selenium sebanyak 10-50  $\mu$ g Se/mL dapat meningkatkan kapasitas antioksidan pada bawang putih (Pöldma *et al.*, 2011). Hal tersebut juga terjadi pada bawang merah (Pöldma *et al.*, 2013). Bawang putih yang diperkaya Selenium juga terbukti dapat memberi efek penghambatan sel kanker payudara yang lebih besar dari pada bawang putih alami (Tsubura *et al.*, 2011). Pada penelitian juga dibuktikan bahwa mengonsumsi brokoli yang diperkaya oleh Se dapat meningkatkan respon imun terhadap berbagai tantangan sistem imun (Bentley-Hewitt *et al.*, 2014). Terdapat juga penelitian yang menunjukkan bahwa makanan yang diperkaya Selenium dapat meningkatkan aktivitas *glutathione peroxidase* (GPx), salah satu enzim antioksidan, yang lebih baik dibandingkan dengan bentuk Selenium lain (Birmingham *et al.*, 2014).

**Tabel 2.** Manfaat spesies Selenium

Spesies Selenium	Kegunaan	Mekanisme	Pustaka
Selenit	Antikanker prostat	Pemberian kombinasi dengan docetaxel memberikan efek sinergis terhadap penghambatan pertumbuhan sel dan secara signifikan menginduksi kematian sel	(Freitas <i>et al.</i> , 2011)
	Antikanker paru-paru	Menginduksi apoptosis dan autofagi yang dimediasi oleh generasi ROS	(Park <i>et al.</i> , 2012)
	Antikanker tulang	Menginduksi apoptosis sel yang dimediasi oleh generasi ROS	(Chen <i>et al.</i> , 2012)
	Antikanker mulut	Menghambat pertumbuhan sel dan menginduksi apoptosis sel	(Endo <i>et al.</i> , 2017)
Selenat	Antikanker prostat	Menghambat perkembangan tumor pada mencit dewasa	(Holmstrom <i>et al.</i> , 2012)
	Antikanker paru-paru	Chitosan selenat (CS) menginduksi apoptosis sel melalui jalur Fas/FasL	(Gao <i>et al.</i> , 2020)
	Proteksi terhadap efek teratogenik	Melindungi janin beserta plasentanya dari efek teratogenik cisplatin	(Hassan <i>et al.</i> , 2016)
	Anti-epilepsi	Mengurangi fosforilasi protein tau sehingga dapat mengurangi durasi kejang	(Jones <i>et al.</i> , 2012)
<i>Selenomethionine</i> (SeMet)	Antikanker payudara	Pembentukan kompleks dengan platinum menghasilkan aktivitas antikanker yang lebih tinggi dan efek samping yang lebih kecil dibandingkan cisplatin dengan cara mengonsumsi glutathione (GSH) sehingga konsentrasi ROS meningkat dan menghasilkan apoptosis sel	(Li <i>et al.</i> , 2018)
	Pencegahan kanker kolorektal	Mencegah kanker kolorektal dengan memodulasi ekspresi 30 protein yang memiliki fungsi utama pada inflamasi kronik, stres oksidatif dan apoptosis	(Rahman & Seo, 2013)
	Pencegahan kanker kulit	Mencegah kanker kulit yang diinduksi UV-B dengan pemberian topikal sebelum, selama, dan setelah paparan radiasi	(Burke <i>et al.</i> , 2014)
	Autoimun	Meningkatkan efek vitamin D pada tiroid	(Krysiak <i>et al.</i> ,

Spesies Selenium	Kegunaan	Mekanisme	Pustaka
	tiroiditis (Hashimoto's thyroiditis)	autoimun	2019)
	Anti <i>alzheimer's disease</i> (AD)	Menurunkan deposisi $\beta$ -amyloid dan hiperfosforilasi protein tau	(Song <i>et al.</i> , 2014; Zhang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Selenocystine</i> (SeCys <sub>2</sub> )	Antikanker payudara	Menghambat proliferasi sel <i>Triple-negative breast cancer</i> (TNBC) melalui apoptosis sel dan <i>S-phase arrest</i> Meningkatkan apoptosis yang diinduksi auranofin dengan cara menghambat TrxR	(Liu <i>et al.</i> , 2013; Long <i>et al.</i> , 2015)
	Antikanker paru-paru	Meningkatkan apoptosis yang diinduksi auranofin dengan cara menghambat TrxR1	(Fan <i>et al.</i> , 2014a)
	Antikanker karsinoma hati	Meningkatkan apoptosis yang diinduksi doxorubisin dengan menghasilkan produksi berlebih ROS	(Fan <i>et al.</i> , 2014b)
	Antikanker <i>choriocarcinoma</i>	Menyebabkan apoptosis melalui pembentukan ROS serta anion superoksida yang diikuti dengan kerusakan DNA	(Zhao <i>et al.</i> , 2018)
	Hepatoprotektor	Menghasilkan aktivitas antioksidatif, immunomodulator dan anti-inflamasi	(Uzma <i>et al.</i> , 2011)
<i>Se-methylselenocysteine</i> (Se-MeSeCys)	Anti-inflamasi	Menurunkan regulasi dari aktivasi NF- $\kappa$ B dan ekspresi iNOS	(Pan <i>et al.</i> , 2011)
	Meningkatkan efek antitumor	Pemberian bersamaan dengan agen kemoterapi dapat meningkatkan aktivitas antitumor dari agen kemoterapi secara signifikan	(Cao <i>et al.</i> , 2014)
	Proteksi terhadap toksisitas dari agen kemoterapi	Mencegah diare, stomatitis, kerontokan rambut, serta efek toksik pada kandung kemih, ginjal, dan sumsum tulang pada hewan yang diberi agen kemoterapi	(Cao <i>et al.</i> , 2014)
	Mempercepat penyembuhan luka	Menstimulasi migrasi keratinosit dan melindungi sel dari stres oksidatif yang berlebihan dengan merangsang respon antioksidan	(Kim <i>et al.</i> , 2020)

Pengujian spesies Selenium baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada hewan uji juga menunjukkan adanya berbagai macam aktivitas biologis seperti yang terdapat pada Tabel 2. Banyak penelitian menunjukkan bahwa spesies Selenium memiliki aktivitas antikanker. Aktivitas antikanker ini kebanyakan dipengaruhi oleh produksi *reactive oxygen species* (ROS). ROS secara dinamis dapat mempengaruhi lingkungan mikro dari sel tumor dan diketahui dapat memicu angiogenesis kanker, metastasis, dan kelangsungan hidup sel pada konsentrasi yang berbeda. Pada konsentrasi sedang, ROS mengaktifkan kaskade pensinyalan kelangsungan hidup sel kanker. Pada konsentrasi tinggi, ROS dapat menyebabkan apoptosis sel kanker (Aggarwal *et al.*, 2019). Spesies Selenium dapat meningkatkan produksi ROS sehingga menyebabkan apoptosis sel. Spesies Selenium yang dikombinasikan dengan obat antikanker juga memiliki efek sinergis, sehingga aktivitas antikanker dapat meningkat. Seperti pada penelitian SeCys<sub>2</sub> yang dilakukan terhadap sel kanker payudara dan paru-paru, menunjukkan bahwa SeCys<sub>2</sub> dapat mensinergikan apoptosis yang diinduksi oleh auranofin dengan menghambat aktivitas

*thioredoxin reductase* (TrxR), sehingga meningkatkan akumulasi ROS yang menyebabkan kerusakan DNA dan inaktivasi ERK dan AKT (Fan *et al.*, 2014a; Liu *et al.*, 2013). Namun, pada hasil pengujian secara klinik spesies Selenium terhadap kanker prostat dan paru-paru menunjukkan hasil bahwa pemberian Selenium tidak memiliki perbedaan dengan pemberian plasebo (Algotar *et al.*, 2013; Karp *et al.*, 2013).

Selain sebagai antikanker, spesies Selenium organik juga memiliki berbagai manfaat lain. Seperti pada pengujian selenat dan SeMet yang menunjukkan bahwa keduanya dapat menurunkan fosforilasi protein tau sehingga dapat digunakan sebagai anti-epilepsi untuk selenat dan anti *alzheimer's disease* (AD) untuk SeMet (Jones *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2014). Pada pemberian SeCys<sub>2</sub> sebelum menginduksi kerusakan hati dengan CCl<sub>4</sub> pada hewan uji, menunjukkan hasil secara signifikan bahwa SeCys<sub>2</sub> dapat mencegah pembentukan ROS, *malondialdehyde* (MDA), penipisan *glutathione*, dan perubahan aktivitas enzim antioksidan, sehingga menunjukkan adanya efek hepatoprotektif (Uzma *et al.*, 2011). Pada pemberian Se-MeSeCys secara oral pada hewan yang diberi agen kemoterapi, spesies ini dapat memberikan perlindungan selektif terhadap toksisitas spesifik organ yang diinduksi oleh agen kemoterapi dan meningkatkan aktivitas antitumor, sehingga meningkatkan indeks terapeutik (Cao *et al.*, 2014). Pada penelitian lain juga didapatkan bahwa Se-MeSeCys dapat menghambat produksi NO yang diinduksi lipopolisakarida dengan penurunan ekspresi gen dan kadar protein *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) serta mengurangi translokasi subunit p65 dan p50 dari *nuclear factor-κB* (NF-κB) sehingga menunjukkan adanya aktivitas anti-inflamasi (Pan *et al.*, 2011).

### 3.3 Toksisitas spesies Selenium pada sayuran

Pada penelitian yang dilakukan oleh MacFarquhar, *et al.* (2010), kasus toksisitas Selenium karena asupan suplemen Selenium yang berlebihan selama dua minggu dapat menimbulkan beberapa gejala seperti diare, kelelahan, rambut rontok, nyeri sendi, perubahan warna kuku atau kerapuhan, dan mual (MacFarquhar *et al.*, 2010). Toksisitas kronis Selenium dapat menyebabkan kondisi yang disebut selenosis, yang ditandai dengan kerontokan dan kerapuhan dari rambut dan kuku, masalah pencernaan, ruam kulit, bau bawang putih pada napas, dan kelainan sistem saraf. Di Cina dilaporkan bahwa selenosis terjadi pada orang yang mengkonsumsi Selenium diatas 910 µg/hari. Maka dari itu Institute of Medicine (2000) menetapkan bahwa level tertinggi asupan Se yang kemungkinan tidak menimbulkan efek resiko bagi kesehatan adalah pada 400 µg Se/hari, dihitung dari 800 µg dibagi dengan *uncertainty factor* (UF) yang memiliki nilai dua untuk melindungi individu yang sensitif.

Toksisitas pada sayuran yang diperkaya Se dapat dilihat dari hasil perhitungan kandungan Se di dalamnya. Seperti pada brokoli yang diperkaya Se yang memiliki jumlah Se maksimum sekitar 1,01 mg/kg, tidak akan menimbulkan resiko toksisitas dengan dasar perhitungan bahwa pada 1 kg brokoli mengandung rata-rata 18% jumlah kering, sehingga 1 kg

brokoli mengandung 180 µg Se. Jumlah ini aman untuk dikonsumsi dan dapat digunakan untuk alternatif suplementasi Se (Sindelarova *et al.*, 2015). Pada perhitungan kandungan Se pada kentang dengan konsumsi per hari per orang adalah 0,3 kg, maka jumlah Se pada kentang dengan biofortifikasi menggunakan selenit adalah sebesar 78,8 µg/hari. Jumlah ini dapat dikatakan aman untuk dikonsumsi dan dapat juga dikonsumsi bersamaan dengan asupan Se dari makanan lain (H. Zhang *et al.*, 2019).

Toksistas Selenium juga tergantung pada jenis spesies kimianya. Unsur Selenium dan logam selenida memiliki toksistas yang relatif lebih sedikit karena bioavailabilitas yang lebih rendah. Sedangkan, spesies organik dan anorganik yang banyak digunakan sebagai sumber nutrisi dapat menyebabkan efek toksik pada jumlah yang besar. SeMet memiliki toksistas yang lebih kecil dibandingkan spesies Selenium anorganik (Yang & Jia, 2014). Se-MeSeCys juga dilaporkan memiliki toksistas yang lebih kecil dan lebih bioaktif daripada Selenium anorganik dan Selenium organik lainnya (Hoefig *et al.*, 2011).

Pada penelitian yang dilakukan terhadap zebrafish (*Danio rerio*) yang ditujukan untuk melihat efek terhadap perkembangan embrio, menunjukkan pemberian selenit dengan konsentrasi tinggi ( $\geq 10 \mu\text{M}$ ) dapat menyebabkan perkembangan embrio yang tertunda, penurunan tingkat penetasan, mortalitas, dan malformasi. Selain itu, paparan selenit juga menyebabkan kerusakan kardiovaskular dan saraf pada embrio. Suplementasi asam folat dapat melindungi dari embriotoksistas ini (Ma *et al.*, 2012). Pada pengujian toksikokinetik dosis oral dari spesies Selenium menunjukkan bahwa MeSeCys lebih cepat diserap daripada SeMet pada dosis yang sama, sedangkan natrium selenat diserap pada tingkat yang sama dengan SeMet dan diserap lebih baik daripada natrium selenit dalam serum dan darah. Urutan AUC atau bioavailabilitas pada darah dan serum adalah selenit < SeMet < selenat < MeSeCys (Davis *et al.*, 2013; Davis *et al.*, 2017).

#### 4. Kesimpulan

Spesies organik Selenium yang paling banyak terdapat pada sayuran adalah *selenomethionine* (SeMet), *selenocystine* (SeCys<sub>2</sub>), *Se-methylselenocysteine* (Se-MeSeCys), serta *γ-Glutamyl-Se-methyl-selenocysteine*. Jumlahnya berbeda tergantung dari spesies tanamannya. Jumlah spesies Selenium anorganik (selenit dan selenat) dipengaruhi oleh jenis Selenium yang ditambahkan sebelum dilakukan spesiasi. Selain spesies tersebut, masih terdapat spesies Selenium lain yang belum diketahui karena tidak tersedianya standar, namun sudah terdapat penelitian yang menggunakan tandem MS untuk mendeteksi spesies yang tidak diketahui. Baik sayuran yang diperkaya Selenium maupun spesies yang terkandung di dalamnya memiliki berbagai manfaat seperti aktivitas antikanker, anti *alzheimer's disease* (AD), hepatoprotektor, anti-inflamasi, dan manfaat lainnya. Namun, konsumsi yang berlebih juga dapat menyebabkan

efek toksik bagi tubuh. Level tertinggi asupan Se yang kemungkinan tidak menimbulkan efek resiko bagi kesehatan adalah 400 µg Se/hari.

### Ucapan terimakasih

Terimakasih kepada KEMENRISTEK DIKTI atas hibah yang telah diberikan dengan nomor grant 1123ah/UN6.O/LT/2019 untuk penulisan *review* artikel ini.

### Daftar pustaka

- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Varol, A., Thakral, F., Yerer, M. B., Sak, K., Varol, M., Jain, A., Khan, M. A., & Sethi, G. (2019). Role of reactive oxygen species in cancer progression: molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules*, *9*(11), 735. doi:10.3390/biom9110735
- Algotar, A. M., Stratton, M. S., Ahmann, F. R., Ranger-Moore, J., Nagle, R. B., Thompson, P. A., Slate, E., Hsu, C. H., Dalkin, B. L., Sindhvani, P., Holmes, M. A., Tuckey, J. A., Graham, D. L., Parnes, H. L., Clark, L. C., & Stratton, S. P. (2013). Phase 3 clinical trial investigating the effect of Selenium supplementation in men at high-risk for prostate cancer. *The Prostate*, *73*(3), 328-335. doi:10.1002/pros.22573
- Amato, R., Lim, P., Miotto, O., Amaratunga, C., Dek, D., Pearson, R. D., Almagro-Garcia, J., Neal, A. T., Sreng, S., Suon, S., Drury, E., Jyothi, D., Stalker, J., Kwiatkowski, D. P., & Fairhurst, R. M. (2017). Genetic markers associated with dihydroartemisinin-piperaquine failure in Plasmodium falciparum malaria in Cambodia: a genotype-phenotype association study. *Lancet Infect Dis*, *17*(2), 164-173. doi:10.1016/S1473-3099(16)30409-1
- Anonim. (2000). *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium, and carotenoids*. Washington (DC): Institute of Medicine (US) Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, National Academies Press (US).
- Bañuelos, G. S., Arroyo, I. S., Dangi, S. R., & Zambrano, M. C. (2016). Continued Selenium biofortification of carrots and broccoli grown in soils once amended with Se-enriched *S. pinnata*. *Front Plant Sci*, *7*, 1251. doi:10.3389/fpls.2016.01251
- Benstoem, C., Goetzenich, A., Kraemer, S., Borosch, S., Manzanares, W., Hardy, G., & Stoppe, C. (2015). Selenium and its supplementation in cardiovascular disease--what do we know? *Nutrients*, *7*(5), 3094-3118. doi:10.3390/nu7053094
- Bentley-Hewitt, K., Chen, R., Lill, R., Hedderley, D., Herath, T., Matich, A., & McKenzie, M. (2014). Consumption of Selenium-enriched broccoli increases cytokine production in human peripheral blood mononuclear cells stimulated ex vivo, a preliminary human intervention study. *Molecular Nutrition & Food Research*, *58*. doi:10.1002/mnfr.201400438
- Birmingham, E. N., Hesketh, J. E., Sinclair, B. R., Koolaard, J. P., & Roy, N. C. (2014). Selenium-enriched foods are more effective at increasing glutathione peroxidase (GPx) activity compared with selenomethionine: a meta-analysis. *Nutrients*, *6*(10), 4002-4031. doi:10.3390/nu6104002
- Burke, K. E., Zhou, X., Wang, Y., Commisso, J., Keen, C. L., Nakamura, R. M., Combs, G. F., Jr., & Wei, H. (2014). The effects of topical L-selenomethionine on protection against UVB-induced skin cancer when given before, during, and after UVB exposure. *J Drugs Dermatol*, *13*(10), 1214-1223.
- Cao, S., Durrani, F. A., Tóth, K., & Rustum, Y. M. (2014). Se-methylselenocysteine offers selective protection against toxicity and potentiates the antitumour activity of anticancer drugs in preclinical animal models. *Br J Cancer*, *110*(7), 1733-1743. doi:10.1038/bjc.2014.85
- Chen, X. J., Duan, F. D., Zhang, H. H., Xiong, Y., & Wang, J. (2012). Sodium selenite-induced apoptosis mediated by ROS attack in human osteosarcoma U2OS cells. *Biol Trace Elem Res*, *145*(1), 1-9. doi:10.1007/s12011-011-9154-2
- D'Amato, R., Regni, L., Falcinelli, B., Mattioli, S., Benincasa, P., Dal Bosco, A., Pacheco, P., Proietti, P., Troni, E., Santi, C., & Businelli, D. (2020). Current knowledge on Selenium biofortification to improve the nutraceutical profile of food: a comprehensive review. *J Agric Food Chem*, *68*(14), 4075-4097. doi:10.1021/acs.jafc.0c00172
- Davis, T. Z., Stegelmeier, B. L., Welch, K. D., Pfister, J. A., Panter, K. E., & Hall, J. O. (2013). Comparative oral dose toxicokinetics of Selenium compounds commonly found in Selenium accumulator plants. *J Anim Sci*, *91*(9), 4501-4509. doi:10.2527/jas.2012-6101



- Davis, T. Z., Tiwary, A. K., Stegelmeier, B. L., Pfister, J. A., Panter, K. E., & Hall, J. O. (2017). Comparative oral dose toxicokinetics of sodium selenite and selenomethionine. *J Appl Toxicol*, 37(2), 231-238. doi:10.1002/jat.3350
- do Nascimento da Silva, E., Aureli, F., D'Amato, M., Raggi, A., Cadore, S., & Cubadda, F. (2017). Selenium bioaccessibility and speciation in Selenium-enriched lettuce: investigation of the Selenocompounds liberated after in vitro simulated human digestion using two-dimensional HPLC-ICP-MS. *J Agric Food Chem*, 65(14), 3031-3038. doi:10.1021/acs.jafc.7b01188
- El-Ramady, H., Abdalla, N., Fári, M., & domokos-szabolcsy, E. (2014). Selenium enriched vegetables as biofortification alternative for alleviating micronutrient malnutrition. *International Journal of Horticultural Science*, 20, 75 – 81. doi:10.31421/IJHS/20/1-2/1121
- Endo, M., Hasegawa, H., Kaneko, T., Kanno, C., Monma, T., Kano, M., Shinohara, F., & Takahashi, T. (2017). Antitumor activity of Selenium compounds and its underlying mechanism in human oral squamous cell carcinoma cells: a preliminary study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*, 29(1), 17-23. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajoms.2016.08.006>
- Fan, C., Zheng, W., Fu, X., Li, X., Wong, Y. S., & Chen, T. (2014a). Enhancement of auranofin-induced lung cancer cell apoptosis by selenocystine, a natural inhibitor of TrxR1 in vitro and in vivo. *Cell death & disease*, 5(4), e1191-e1191. doi:10.1038/cddis.2014.132
- Fan, C., Zheng, W., Fu, X., Li, X., Wong, Y. S., & Chen, T. (2014b). Strategy to enhance the therapeutic effect of doxorubicin in human hepatocellular carcinoma by selenocystine, a synergistic agent that regulates the ROS-mediated signaling. *Oncotarget*, 5(9), 2853-2863. doi:10.18632/oncotarget.1854
- Freitas, M., Alves, V., Sarmiento-Ribeiro, A., & Mota Pinto, A. (2011). Combined effect of sodium selenite and docetaxel on PC3 metastatic prostate cancer cell line. *Biochemical and biophysical research communications*, 408, 713-719. doi:10.1016/j.bbrc.2011.04.109
- Funes-Collado, V., Rubio, R., & López-Sánchez, J. F. (2015). Does boiling affect the bioaccessibility of Selenium from cabbage? *Food Chemistry*, 181, 304-309. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.052>
- Gao, J., Zhao, Y., Wang, C., Ji, H., Yu, J., Liu, C., & Liu, A. (2020). A novel synthetic chitosan selenate (CS) induces apoptosis in A549 lung cancer cells via the Fas/FasL pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 689-697. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.016>
- Hassan, M., Morgan, A., Mekawy, M., Zaki, A., & Ghazi, Z. (2016). Teratogenic effect of cisplatin in rats and the protective role of sodium selenate. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 68. doi:10.1016/j.etp.2016.02.003
- Hoefig, C. S., Renko, K., Köhrle, J., Birringer, M., & Schomburg, L. (2011). Comparison of different selenocompounds with respect to nutritional value vs. toxicity using liver cells in culture. *J Nutr Biochem*, 22(10), 945-955. doi:10.1016/j.jnutbio.2010.08.006
- Holmstrom, A., Wu, R. T. Y., Zeng, H., Lei, K. Y., & Cheng, W.-H. (2012). Nutritional and supranutritional levels of selenate differentially suppress prostate tumor growth in adult but not young nude mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(9), 1086-1091. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.06.001>
- Hsu, F. C., Wirtz, M., Heppel, S. C., Bogs, J., Krämer, U., Khan, M. S., Bub, A., Hell, R., & Rausch, T. (2011). Generation of Se-fortified broccoli as functional food: impact of Se fertilization on S metabolism. *Plant Cell Environ*, 34(2), 192-207. doi:10.1111/j.1365-3040.2010.02235.x
- Jones, N. C., Nguyen, T., Corcoran, N. M., Velakoulis, D., Chen, T., Grundy, R., O'Brien, T. J., & Hovens, C. M. (2012). Targeting hyperphosphorylated tau with sodium selenate suppresses seizures in rodent models. *Neurobiol Dis*, 45(3), 897-901. doi:10.1016/j.nbd.2011.12.005
- Kápolna, E., Laursen, K. H., Husted, S., & Larsen, E. H. (2012). Bio-fortification and isotopic labelling of Se metabolites in onions and carrots following foliar application of Se and <sup>77</sup>Se. *Food Chemistry*, 133(3), 650-657. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.043>
- Karp, D. D., Lee, S. J., Keller, S. M., Wright, G. S., Aisner, S., Belinsky, S. A., Johnson, D. H., Johnston, M. R., Goodman, G., Clamon, G., Okawara, G., Marks, R., Frechette, E., McCaskill-Stevens, W., Lippman, S. M., Ruckdeschel, J., & Khuri, F. R. (2013). Randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III chemoprevention trial of Selenium supplementation in patients with resected stage I non-small-cell lung cancer: ECOG 5597. *J Clin Oncol*, 31(33), 4179-4187. doi:10.1200/jco.2013.49.2173
- Kielczykowska, M., Kocot, J., Pazdzior, M., & Musik, I. (2018). Selenium - a fascinating antioxidant of protective properties. *Adv Clin Exp Med*, 27(2), 245-255. doi:10.17219/acem/67222
- Kim, D., Ku, B., & Choi, E. M. (2020). Se-methylselenocysteine stimulates migration and antioxidant response in HaCaT keratinocytes: Implications for wound healing. *J Trace Elem Med Biol*, 58, 126426. doi:10.1016/j.jtemb.2019.126426

- Krysiak, R., Kowalcze, K., & Okopien, B. (2019). Selenomethionine potentiates the impact of vitamin D on thyroid autoimmunity in euthyroid women with Hashimoto's thyroiditis and low vitamin D status. *Pharmacol Rep*, *71*(2), 367-373. doi:10.1016/j.pharep.2018.12.006
- Lavu, R. V., Du Laing, G., Van de Wiele, T., Pratti, V. L., Willekens, K., Vandecasteele, B., & Tack, F. (2012). Fertilizing soil with Selenium fertilizers: impact on concentration, speciation, and bioaccessibility of Selenium in leek (*Allium ampeloprasum*). *J Agric Food Chem*, *60*(44), 10930-10935. doi:10.1021/jf302931z
- Li, T., Xiang, W., Li, F., & Xu, H. (2018). Self-assembly regulated anticancer activity of platinum coordinated selenomethionine. *Biomaterials*, *157*, 17-25. doi:10.1016/j.biomaterials.2017.12.001
- Liu, C., Liu, Z., Li, M., Li, X., Wong, Y. S., Ngai, S. M., Zheng, W., Zhang, Y., & Chen, T. (2013). Enhancement of auranofin-induced apoptosis in MCF-7 human breast cells by selenocystine, a synergistic inhibitor of thioredoxin reductase. *PLoS One*, *8*(1), e53945. doi:10.1371/journal.pone.0053945
- Long, M., Wu, J., Hao, J., Liu, W., Tang, Y., Li, X., Su, H., & Qiu, W. (2015). Selenocystine-induced cell apoptosis and S-phase arrest inhibit human triple-negative breast cancer cell proliferation. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, *51*(10), 1077-1084. doi:10.1007/s11626-015-9937-4
- Ma, Y., Wu, M., Li, D., Li, X. Q., Li, P., Zhao, J., Luo, M. N., Guo, C. L., Gao, X. B., Lu, C. L., & Ma, X. (2012). Embryonic developmental toxicity of selenite in zebrafish (*Danio rerio*) and prevention with folic acid. *Food Chem Toxicol*, *50*(8), 2854-2863. doi:10.1016/j.fct.2012.04.037
- MacFarquhar, J. K., Broussard, D. L., Melstrom, P., Hutchinson, R., Wolkin, A., Martin, C., Burk, R. F., Dunn, J. R., Green, A. L., Hammond, R., Schaffner, W., & Jones, T. F. (2010). Acute Selenium toxicity associated with a dietary supplement. *Arch Intern Med*, *170*(3), 256-261. doi:10.1001/archinternmed.2009.495
- Pan, M. H., Hong, H. M., Lin, C. L., Jhang, A. Z., Tsai, J. H., Badmaev, V., Nagabhushanam, K., Ho, C. T., & Chen, W. J. (2011). Se-methylselenocysteine inhibits lipopolysaccharide-induced NF-kappaB activation and iNOS induction in RAW 264.7 murine macrophages. *Mol Nutr Food Res*, *55*(5), 723-732. doi:10.1002/mnfr.201000481
- Park, S. H., Kim, J. H., Chi, G. Y., Kim, G. Y., Chang, Y. C., Moon, S. K., Nam, S. W., Kim, W. J., Yoo, Y. H., & Choi, Y. H. (2012). Induction of apoptosis and autophagy by sodium selenite in A549 human lung carcinoma cells through generation of reactive oxygen species. *Toxicol Lett*, *212*(3), 252-261. doi:10.1016/j.toxlet.2012.06.007
- Pérez, B., Lipinski, V., Filippini, M., Chacón-Madrid, K., Arruda, M., & Wuilloud, R. (2019). Selenium biofortification on garlic growth and other nutrients accumulation. *Horticultura Brasileira*, *37*, 294-301. doi:10.1590/s0102-053620190307
- Pöldma, P., Moor, U., Tõnutare, T., Herodes, K., & Rebane, R. (2013). Selenium treatment under field conditions affects mineral nutrition, yield and antioxidant properties of bulb onion (*Allium cepa* L.). *Acta scientiarum Polonorum. Hortorum cultus = Ogrodnictwo*, *12*, 167-181.
- Poldma, P., Tonutare, T., Viitak, A., Luik, A., & Moor, U. (2011). Effect of Selenium treatment on mineral nutrition, bulb size, and antioxidant properties of garlic (*Allium sativum* L.). *J Agric Food Chem*, *59*(10), 5498-5503. doi:10.1021/jf200226p
- Rahman, M. M., & Seo, Y. R. (2013). Discovery of potential targets of selenomethionine-mediated chemoprevention in colorectal carcinoma mouse model using proteomics analysis. *Carcinogenesis*, *34*(7), 1575-1584. doi:10.1093/carcin/bgt078
- Ruszczyńska, A., Konopka, A., Kurek, E., Torres Elguera, J. C., & Bulska, E. (2017). Investigation of biotransformation of Selenium in plants using spectrometric methods. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, *130*, 7-16. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sab.2017.02.004>
- Schiavon, M., & Pilon-Smits, E. A. (2017). Selenium biofortification and phytoremediation phytotechnologies: a review. *J Environ Qual*, *46*(1), 10-19. doi:10.2134/jeq2016.09.0342
- Sindelarova, K., Szakova, J., Tremlova, J., Mestek, O., Praus, L., Kana, A., Najmanova, J., & Tlustos, P. (2015). The response of broccoli (*Brassica oleracea* convar. *italica*) varieties on foliar application of Selenium: uptake, translocation, and speciation. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, *32*(12), 2027-2038. doi:10.1080/19440049.2015.1099744
- Song, G., Zhang, Z., Wen, L., Chen, C., Shi, Q., Zhang, Y., Ni, J., & Liu, Q. (2014). Selenomethionine ameliorates cognitive decline, reduces tau hyperphosphorylation, and reverses synaptic deficit in the triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, *41*(1), 85-99. doi:10.3233/JAD-131805
- Stoffaneller, R., & Morse, N. L. (2015). A review of dietary Selenium intake and Selenium status in Europe and the Middle East. *Nutrients*, *7*(3), 1494-1537. doi:10.3390/nu7031494
- Thiry, C., Schneider, Y. J., Pussemier, L., De Temmerman, L., & Ruttens, A. (2013). Selenium bioaccessibility and bioavailability in Se-enriched food supplements. *Biol Trace Elem Res*, *152*(1), 152-160. doi:10.1007/s12011-013-9604-0

- Thosaikham, W., Jitmanee, K., Sittipout, R., Maneetong, S., Chantiratikul, A., & Chantiratikul, P. (2014). Evaluation of Selenium species in Selenium-enriched pakchoi (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee) using mixed ion-pair reversed phase HPLC-ICP-MS. *Food Chem*, *145*, 736-742. doi:10.1016/j.foodchem.2013.08.116
- Tsubura, A., Lai, Y. C., Kuwata, M., Uehara, N., & Yoshizawa, K. (2011). Anticancer effects of garlic and garlic-derived compounds for breast cancer control. *Anticancer Agents Med Chem*, *11*(3), 249-253. doi:10.2174/187152011795347441
- Uzma, N., Kumar, B. S., & Priyadarsini, K. I. (2011). Hepatoprotective, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of selenocystine in experimental liver injury of rats. *Biol Trace Elem Res*, *142*(3), 723-734. doi:10.1007/s12011-010-8807-x
- Weekley, C. M., & Harris, H. H. (2013). Which form is that? The importance of Selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chem Soc Rev*, *42*(23), 8870-8894. doi:10.1039/c3cs60272a
- Yang, H., & Jia, X. (2014). Safety evaluation of Se-methylselenocysteine as nutritional Selenium supplement: acute toxicity, genotoxicity and subchronic toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol*, *70*(3), 720-727. doi:10.1016/j.yrtph.2014.10.014
- Zhang, H., Zhao, Z., Zhang, X., Zhang, W., Huang, L., Zhang, Z., Yuan, L., & Liu, X. (2019). Effects of foliar application of selenate and selenite at different growth stages on Selenium accumulation and speciation in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chemistry*, *286*, 550-556. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.185>
- Zhang, Z., Yuan, L., Qi, S., & Yin, X. (2019). The threshold effect between the soil bioavailable molar Se:Cd ratio and the accumulation of Cd in corn (*Zea mays* L.) from natural Se-Cd rich soils. *Science of The Total Environment*, *688*, 1228-1235. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.331>
- Zhang, Z. H., Chen, C., Wu, Q. Y., Zheng, R., Liu, Q., Ni, J. Z., Hoffmann, P. R., & Song, G. L. (2016). Selenomethionine reduces the deposition of beta-amyloid plaques by modulating beta-secretase and enhancing selenoenzymatic activity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Metallomics*, *8*(8), 782-789. doi:10.1039/c6mt00117c
- Zhao, M., Hou, Y., Fu, X., Li, D., Sun, J., Fu, X., & Wei, Z. (2018). Selenocystine inhibits JEG-3 cell growth in vitro and in vivo by triggering oxidative damage-mediated S-phase arrest and apoptosis. *J Cancer Res Ther*, *14*(7), 1540-1548. doi:10.4103/jcrt.JCRT\_864\_17

## JPH203 as a potential L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT 1) inhibitor in the development of cancer theragnostic compounds

### Potensi JPH203 sebagai inhibitor *L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT1)* dalam pengembangan senyawa teranostik kanker

Yolanda Pertiwi<sup>1</sup>, Driyanti Rahayu<sup>1</sup>, Maula Eka Sriyani<sup>2</sup>, Raden Bayu Indradi<sup>3</sup>, Holis Abdul Holik<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical Analysis and Medical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Padjadjaran

<sup>2</sup> Center for Applied Nuclear Science and Technology (PSTNT) Batan, Bandung

<sup>3</sup> Department of Pharmaceutical Biology, Faculty of Pharmacy, Universitas Padjadjaran

\* Corresponding author: [holis@unpad.ac.id](mailto:holis@unpad.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** Cancer has become a major cause of global health problems. Latest research currently focuses on an approach to cancer therapy that involves specific target molecules and theragnostic (therapy and diagnostic) agents. Among the specific target molecules in cancer therapy is LAT1, which is over expressed in cancer cells but under expressed in normal cells. Therefore, LAT1 inhibition can become an alternative to cancer therapy. A number of studies have shown that JPH203 specifically inhibits LAT1, thus reducing amino acid absorption into cancer cells and inhibiting cancer cell growth.

**Objective:** The main objective of this literature study was to determine the potential of JPH203 as a LAT1 inhibitor to be developed into a novel theragnostic agent for cancer.

**Methods:** Various studies were summarized to outline the development of JPH203 as a therapy targeting LAT1 and potential candidate of theragnostic compounds.

**Results:** The results of the literature study showed that JPH203 as a selective LAT1 inhibitor was able to efficiently suppress the growth of cancer cells with a low IC<sub>50</sub> value.

**Conclusion:** The activity of LAT1 as an amino acid transporter of cancer cells could be selectively inhibited by JPH203, thereby allowing JPH203 to be reconsidered as a potential therapy in the development of theragnostic compounds against cancer.

**Keywords:** JPH203, theragnostic, LAT1 inhibitor

#### Intisari

**Latar belakang:** Kanker telah menjadi penyebab masalah kesehatan utama di dunia. Saat ini penelitian terbaru berfokus pada pendekatan terapi kanker yang melibatkan molekul target yang spesifik dan menggunakan senyawa teranostik (terapi dan diagnostik). Salah satu molekul target spesifik dalam terapi kanker adalah LAT1 yang terekspresi berlebih pada sel kanker, namun sedikit pada sel normal. Oleh karena itu, inhibisi LAT1 dapat menjadi alternatif terapi kanker. Beberapa penelitian menunjukkan inhibitor yang secara spesifik menghambat LAT1 adalah JPH203, sehingga penyerapan asam amino ke dalam sel kanker dapat berkurang dan menghambat pertumbuhan sel kanker.

**Tujuan:** Tujuan utama dari studi literatur ini adalah untuk mengetahui potensi JPH203 yang merupakan inhibitor LAT1 dalam perannya sebagai senyawa teranostik baru terhadap penyakit kanker.

**Metode:** Berbagai penelitian dirangkum mengenai pengembangan JPH203 sebagai terapi pentarget-LAT1 dan potensinya sebagai kandidat senyawa teranostik.

**Hasil:** Hasil studi literatur yang dilakukan menunjukkan bahwa JPH203 sebagai inhibitor selektif LAT1 mampu menekan pertumbuhan sel kanker secara efisien dengan didapatkan hasil IC<sub>50</sub> yang rendah.

**Kesimpulan:** Aktivitas LAT1 sebagai *transporter* asam amino sel kanker dapat dihambat secara selektif oleh JPH203, sehingga dapat dipertimbangkan kembali sebagai target terapi potensial yang dapat digunakan dalam pengembangan senyawa teranostik kanker.

**Kata kunci :** JPH203, teranostik, inhibitor LAT1

---

## 1. Pendahuluan

Penyakit tidak menular (PTM), sekarang ini bertanggung jawab atas sebagian besar kematian global dan kanker menempati peringkat atas sebagai penyebab utamanya. Kanker merupakan penyakit penyebab kematian nomor satu pada populasi yang berusia di bawah 70 tahun hampir di seluruh negara di dunia, dan menjadi salah satu penghalang untuk meningkatkan harapan hidup manusia di setiap negara di dunia sejak abad ke-21 (Bray *et al.*, 2018). Data *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) (Globocan, 2019) pada tahun 2018, menunjukkan terjadinya 18,1 juta kasus kanker di seluruh dunia dan lebih dari setengah kasus mengalami kematian. Di Indonesia, prevalensi kanker meningkat dari 1,4 per 100 penduduk pada tahun 2013 menjadi 1,79 per 1000 penduduk pada tahun 2018, dengan kasus terbaru yang paling banyak adalah kanker payudara dan kasus penyebab kematian terbanyak adalah kanker paru (World Health Organization [WHO], 2019). Jumlah kasus serta kematian yang tinggi pada penyakit kanker berhubungan dengan meningkatnya prevalensi faktor risiko seperti kelebihan berat badan, merokok, pertumbuhan populasi yang tinggi serta seiring dengan bertambahnya usia (Ke & Shen, 2017).

Saat ini, pengobatan kanker telah bergerak ke arah *personalized medicine*, dimana dikembangkan berbagai obat pentarget baru secara klinis. Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan sebagai terapi kanker. Operasi, terapi dengan radiofarmaka serta kemoterapi menjadi metode utama yang digunakan pada pengobatan kanker saat ini. Namun, hal ini belum sepenuhnya membuat diagnosis serta pengobatan kanker memberikan efek farmakologis sesuai dengan yang diharapkan (Vogenberg *et al.*, 2010). Dalam aspek diagnosis, kanker hampir selalu terdeteksi saat sel kanker sudah membentuk massa yang cukup besar, karena kurangnya kemampuan alat untuk mendeteksi lokasi dan ukuran kanker secara tepat pada fase awal (Khadir & Tiss, 2013). Dalam aspek terapi, belum ditemukan obat yang benar-benar selektif hanya membunuh sel kanker tanpa membunuh sel normal di sekitarnya, seperti jaringan limfosit dan saluran cerna (Dermime, 2014). Kesulitan dalam diagnosis serta terapi kanker disebabkan oleh heterogenitas sel kanker, yang dapat terjadi karena pertumbuhan sel kanker sangat cepat, sehingga saat sel belum matang, sel telah mengalami mitosis (pembelahan sel yang menghasilkan sel identik). Sebagai akibatnya, perkembangan sel kanker akan semakin bervariasi dan menyimpang jauh dari sel asal (Peterson, 2010). Untuk meminimalisir terjadinya heterogenitas tersebut, maka dikembangkanlah pengobatan kanker berdasarkan pada *targeted therapy* yang berperan untuk menghambat proliferasi sel kanker dengan cara mengganggu molekul spesifiknya, terapi ini disebut juga sebagai *molecular targeted*

*therapy*. Terapi tersebut diharapkan memiliki efektivitas dan selektivitas yang tinggi terhadap sel kanker, namun memiliki efek samping yang rendah (Verma, 2012).

Untuk mengefektifkan diagnosis serta terapi kanker, dibutuhkan molekul target yang tepat (Tabel 1). Para peneliti di bidang onkologi telah memberikan atensi lebih kepada molekul target yang saat ini menjadi topik hangat pada diagnosis dan terapi kanker, dikarenakan kemampuan uniknya dalam ekspresi sel kanker. Molekul target ini adalah *L-type amino acid transporter 1* atau biasa disebut LAT1 (SLC7A5)(Bray *et al.*, 2018; Choi *et al.*, 2017).

**Tabel 1.** Terapi pentarget LAT1

Jenis	Senyawa	Mekanisme aksi
Inhibitor LAT1 <i>non-selective</i>	BCH	Bersaing dengan penyerapan substrat LAT1 dengan berikatan pada LAT1 dan diangkut ke dalam sel
Inhibitor LAT1 <i>selective</i>	JPH203	Menghambat LAT1 secara spesifik sehingga proliferasi sel terganggu
<i>mAb Against LAT1</i>	Ab1	Berikatan dengan LAT1 sehingga mengganggu transport asam amino oleh LAT1

Sel kanker membutuhkan nutrisi dan asam amino dalam jumlah yang cukup besar agar dapat tumbuh dengan cepat dan terus berproliferasi. Kebutuhan asam amino ini dipenuhi dengan mengangkut asam amino serta nutrisi yang dibutuhkan ke dalam sel melalui *transporter* yang selektif pada membran plasma, dalam hal ini yaitu LAT1 (Zhao *et al.*, 2015; Maimaiti *et al.*, 2020). LAT1 merupakan *transporter* asam amino yang mempunyai kemampuan dapat tereksresi tinggi dalam sel kanker, namun terdistribusi sedikit pada sel normal (Kaira *et al.*, 2019).

Sebelum mengobati sel kanker, diperlukan diagnosis yang tepat mengenai keberadaan sel kanker dengan menggunakan pencitraan. Salah satu yang digunakan adalah dengan radiodiagnostik. Beberapa komponen untuk melaksanakan radiodiagnostik meliputi: (1) radioisotop atau senyawa penanda yang berfungsi sebagai senyawa penanda agar pencitraan sel kanker dapat terbaca oleh alat pencitraan, Carbon-11 ( $^{11}\text{C}$ ) dan Fluoro-18 ( $^{18}\text{F}$ ) merupakan radioisotop yang umum digunakan dalam radiodiagnostik kanker (Toyoda *et al.*, 2014); (2) senyawa target yang dapat mengekspresikan sel kanker, salah satu contohnya adalah LAT1 (Yun *et al.*, 2014); (3) senyawa pentarget yang berfungsi menuntun radioisotop agar sampai pada senyawa target yang diinginkan, diantaranya yaitu BCH dan JPH203; dan (4) alat pencitraan untuk membaca hasil pencitraan yang dihasilkan, contohnya yaitu *positron emission tomography* (PET) (Huang, 2019).

Salah satu terapi kanker yang umumnya digunakan di Indonesia adalah radiofarmaka. Radiofarmaka merupakan sediaan farmasi yang umumnya diberikan melalui intravena dalam bentuk senyawa kimia yang di dalamnya mengandung radioisotop. Pengobatan penyakit kanker

menggunakan radiofarmaka sudah dimulai sejak setengah abad yang lalu dan berkembang pesat mulai tahun 1980-an (Chaturvedi & Mishra, 2016; Hayashi & Anzai, 2017). Radioisotop yang digunakan dalam diagnosis disebut radiodiagnostik, sedangkan untuk menggunakan terapi disebut radioterapi. Beberapa radiodiagnostik dan radioterapi yang digunakan adalah logam *Carbon-11* ( $^{11}\text{C}$ ), *Fluoro-18* ( $^{18}\text{F}$ ), *Zirconium-89* ( $^{89}\text{Zr}$ ), *Gallium-68* ( $^{68}\text{Ga}$ ) dan *Copper-64* ( $^{64}\text{Cu}$ ) (Glaudemans *et al.*, 2013; Ikotun *et al.*, 2013; Tadashi Watabe *et al.*, 2017).

**Tabel 2.** Level ekspresi LAT1 dalam berbagai penyakit kanker

Referensi	Jenis kanker	Level ekspresi
Uno <i>et al.</i> , 2011	Kanker serviks	Lebih tinggi pada karsinoma sel skuamosa invasif daripada pada neoplasia intraepitel serviks
Kaira <i>et al.</i> , 2010	Kanker paru non-sel kecil (NSCLC)	Lebih tinggi pada pasien dengan kelenjar getah bening dari pada yang tidak
Yun <i>et al.</i> , 2014	Kanker mulut	Tinggi
Oda <i>et al.</i> , 2010	Kanker payudara	Tinggi
Rosilio <i>et al.</i> , 2015	Leukimia	Tinggi
Watabe <i>et al.</i> , 2016	Glioma	Lebih tinggi dalam sel glioma infiltrasi daripada dalam sel yang terletak di pusat tumor
Nobusawa <i>et al.</i> , 2013	Kanker tiroid	Tinggi

Peningkatan ekspresi LAT1 (Tabel 2) merupakan salah satu cara sel kanker memenuhi kebutuhan asam aminonya secara utuh. Semakin banyak asupan asam amino yang didapatkan oleh sel kanker, semakin mudah juga sel kanker berkembang di dalam tubuh. Untuk mencegah hal tersebut, diperlukan senyawa yang secara selektif menghambat pemberian asam amino oleh LAT1 kepada sel kanker (Rathore & Gupta, 2010). Beberapa studi klinis dan skrining secara biologis menunjukkan salah satu senyawa yang dapat berikatan dan menghambat LAT1 secara selektif yaitu JPH203 (Kaira *et al.*, 2010; D. W. Yun *et al.*, 2014).

JPH203 merupakan inhibitor selektif yang menjadikan LAT1 sebagai targetnya, yang artinya senyawa ini mempunyai aktivitas yang dapat menghambat fungsi LAT1. JPH203 telah dikembangkan untuk terapi antikanker yang dapat menghambat pengangkutan LAT1 sehingga penyerapan asam amino ke dalam sel tumor dapat berkurang (Toyoshima *et al.*, 2013). Pada artikel review ini dirangkum berbagai penelitian mengenai pengembangan JPH203 sebagai terapi pentarget-LAT1 dan potensinya sebagai kandidat senyawa teranostik.

## 2. Metodologi penelitian

Pada penulisan artikel *review* ini, metode yang digunakan adalah metode studi literatur. Tahapan yang dilakukan, yaitu pengumpulan dan karakterisasi data yang diperoleh, analisis data, interpretasi hasil, dan pengkajian penelitian lebih lanjut.

Data dikumpulkan dari *website* yang sudah terverifikasi seperti <https://www.researchgate.net>, <https://www.sciencedirect.com>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, <https://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, dan <http://www.jpharma.com/> yang memuat berbagai penelitian yang telah dipublikasikan pada jurnal internasional yang sudah terakreditasi mencakup *Journal of Pharmacological Sciences*, *Journal of Pharmaceutical Science*, *Placenta*, dan *Drug Metab. Pharmacokinet*. Kata kunci yang digunakan adalah JPH203; LAT1; *Cancer*; dan *Methionine* dengan waktu pustaka 10 tahun terakhir dalam artikel Bahasa Inggris.

Data yang diperoleh mencakup data kuantitatif dan data kualitatif. Pengolahan data kuantitatif dilakukan dengan mendeskripsikan variabel yang terdapat pada penelitian dari berbagai macam sumber studi dan menarasikannya menjadi bentuk paragraf, sehingga data yang diperoleh dapat dijelaskan. Untuk pengolahan data kualitatif dilakukan melalui proses pemilihan serta simplifikasi data dengan penyajian dalam bentuk naratif deskriptif yang akan ditarik simpulannya secara bertahap. Dari kedua data tersebut didapatkan interpretasi hasil yang dapat digunakan untuk pertimbangan penelitian lebih lanjut.

### 3. Hasil dan pembahasan

Pada kelompok *transporter* asam amino tipe-L (LAT) terdapat 4 tipe pengangkut, yaitu LAT1, LAT2, LAT3 dan LAT4. LAT memiliki fungsi sebagai rute penting untuk masuknya asam amino esensial (AAE) ke dalam sel. Tetapi di antara ke empatnya, yang terekspresi secara berlebih pada sel kanker adalah LAT1 (Wang & Holst, 2015). Ekspresi LAT1 yang meningkat disebabkan karena sel kanker yang membutuhkan AAE secara masif (Salisbury & Arthur, 2018).

Studi dasar dan klinis membuktikan bahwa LAT1 merupakan molekul target yang valid untuk senyawa teranostik kanker. LAT1 dapat mengangkut AAE netral (seperti *leusin*, *phenylalanine*, tirosin dan triptopan) yang sebelumnya berada pada ekstraseluler ke intraseluler kanker dengan cara bergantung pada ion Natrium (Na<sup>+</sup>) di dalam tubuh (Scalise *et al.*, 2018). Selanjutnya LAT1 akan berikatan dengan glikoprotein *heavy chain 4F2 surface antigen* (4F2hc, CD98, SLC3A2) dan akan membentuk kompleks heterodimer. Pembentukan kompleks heterodimer ini bertujuan agar LAT1 dapat meng-*import* AAE netral dalam jumlah yang besar dan menukarnya dengan AAE intraseluler (misalnya, glutamin), sehingga LAT1 dapat mengekspresikan sel kanker (Okubo *et al.*, 2010; Singh & Ecker, 2018). LAT1 menunjukkan afinitas yang lebih tinggi pada AAE intraseluler dibandingkan AAE ekstraseluler, dan mengindikasikan bahwa jumlah asam amino yang diberikan kepada sel kanker bergantung pada konsentrasi substrat intraselulernya (Napolitano *et al.*, 2015). Dalam hal ini, JPH203 menunjukkan inhibisi spesifiknya terhadap LAT1, karena hanya menginhibisi LAT1 tanpa



menginhibisi *transporter* lainnya, seperti LAT2. Sehingga JPH203 diharapkan dapat menjadi senyawa yang potensial baik dalam diagnostik maupun terapi kanker (Toyoda *et al.*, 2014).

LAT1 berperan sebagai pengangkut AAE ke dalam sel kanker, sehingga senyawa ini tidak mempunyai kemampuan sebagai terapi pada sel kanker. Maka dilakukan pengembangan senyawa yang diharapkan memiliki kemampuan terapi pada sel kanker dengan menginhibisi LAT1 (Ikotun *et al.*, 2013). Penghambatan LAT1 direpresentasikan oleh senyawa *2-aminobicyclo-(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid* (BCH). Tetapi, BCH tidak memiliki selektivitas yang tinggi terhadap LAT1, karena BCH juga dapat menghambat fungsi LAT2 yang tereksresi pada sel normal. Sehingga pada tahun 2010, Oda *et al.*, memperkenalkan analog tirosin baru dengan selektivitas tinggi terhadap LAT1, yaitu JPH203 yang memiliki potensi aktivitas penghambatan secara selektif kepada LAT1 baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Bodoy *et al.*, 2005). Berdasarkan studi literatur, belum ditemukan rincian dari interaksi antara JPH203 dengan sel kanker, namun studi Choi *et al.*, pada tahun 2017 menunjukkan bahwa JPH203 dapat menghambat pemberian AAE kepada sel kanker dengan menghambat aktivitas LAT1.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa banyak tumor ganas yang mengekspresi LAT1 secara berlebihan diantaranya kasus kanker utama seperti glioma (T. Watabe *et al.*, 2016), Kanker payudara (Furuya *et al.*, 2012), kanker pankreas (Kaira *et al.*, 2010), kanker lidah (Toyoda *et al.*, 2014) kanker hipofaring (Toyoda *et al.*, 2014), kanker hepatoseluler (Namikawa *et al.*, 2015), kanker ovarium (Zhao *et al.*, 2015), karsinoma laring (Nikkuni *et al.*, 2015) kanker esofagus (Honjo *et al.*, 2016). Selanjutnya, dilakukan studi literatur mengenai potensi JPH203 dalam menghambat LAT1 secara selektif dengan metode pengujian *in vitro* maupun *in vivo* (Tabel 3).

Dari berbagai penelitian tersebut, didapatkan hasil bahwa JPH203 menunjukkan aktivitasnya sebagai senyawa inhibitor selektif LAT1 yang menjanjikan sebagai senyawa anti kanker baru dengan metode pengujian baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Tabel 3). Pada beberapa hasil penelitian mengenai penghambatan proliferasi sel kanker oleh JPH203, didapatkan hasil  $IC_{50}$  nya cukup rendah jika dibandingkan dengan hasil  $IC_{50}$  pada senyawa BCH sebagai inhibitor LAT1 yang kurang spesifik. JPH203 merupakan inhibitor selektif yang menjadikan LAT1 sebagai targetnya. Senyawa ini menunjukkan inhibisi yang kuat pada *leusin uptake* dan pertumbuhan sel dengan masing-masing nilai  $IC_{50}$  adalah 0,06  $\mu$ M dan 4,1  $\mu$ M di dalam sel kanker usus (HT-29), sel kanker mulut (YD-38) dan sel leukemia (Ikotun *et al.*, 2013; Yun *et al.*, 2014).

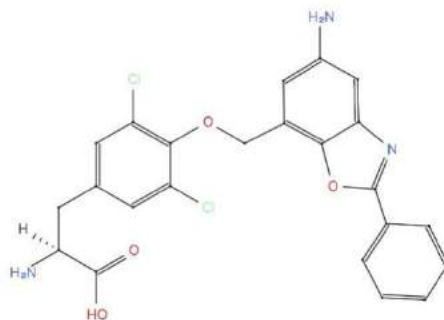
**Tabel 3.** Potensi JPH203 senyawa teranostik beberapa penyakit kanker

Referensi	Penyakit	Metode pengujian	Cell line	IC <sub>50</sub> JPH203 (μM)	IC <sub>50</sub> BCH (μM)	Mekanisme
Yun <i>et al.</i> , 2014	Kanker mulut	Uji <i>in vitro</i>	YD-38	0,79±0,06	92,6±8,9	Induksi apoptosis sel YD-38 menggunakan JPH203 dengan menginduksi penipisan intraseluler AAE netral meningkat sebanyak 16,5%.
Muto <i>et al.</i> , 2019	Kanker usus	Uji <i>in vitro</i>	HT-29 Lovo	30,0±6,4 2,3±0,3		JPH203 mereduksi secara signifikan viabilitas pada kanker usus, dengan <i>cell line</i> Lovo yang paling tinggi efek reduksinya.
Muto <i>et al.</i> , 2019	Kanker lambung	Uji <i>in vitro</i>	MKN1 MKN45	41,7±2,3 4,6±1,0		JPH203 efektif dalam mereduksi sel kanker lambung, terutama pada <i>cell line</i> MKN45.
Choi <i>et al.</i> , 2017	Osteosarkoma	Uji <i>in vitro</i>	Saos2 FOB	1,37±0,27 92,12±10,71	72,17±0,92 167,37±21,86	JPH203 menekan pertumbuhan dan proliferasi sel Saos2 lebih kuat dibandingkan sel FOB, serta meningkatkan apoptosis sel kanker.
Cormerais <i>et al.</i> , 2019	Medulloblastoma (MB)	Uji <i>in vitro</i>	HD-MB03 DAOY			JPH203 menghambat homeostasis asam amino, migrasi dan proliferasi sel dengan toksisitas yang rendah.
Häfliger <i>et al.</i> , 2018	Kanker tiroid anaplastik	Uji <i>in vivo</i>	8505c SW1736  Hth104	2,0 4,4  1,3	112	JPH203 menghambat proliferasi 5 dari 6 <i>cell line</i> pada kanker tiroid anaplastik.
Häfliger <i>et al.</i> , 2018	Kanker tiroid papiler	Uji <i>in vivo</i>	K1 KTC1  TPC1	16,9 6,8  2,0		JPH203 menurunkan rasio pertumbuhan sel kanker serta ukurannya.

Salah satunya, penelitian Yun *et al.*, pada tahun 2014, dilakukan pemeriksaan efek pemberian JPH203 dan BCH pada viabilitas sel YD-38 dan NHOKs. Pada sel YD-38 dan NHOKs ditambahkan JPH203 pada berbagai konsentrasi dan waktu inkubasi dan kemudian dianalisis menggunakan uji MTT dengan pereaksi MTT guna menguji aktivitas sitotoksik pada kedua sel tersebut. Saat sel di uji coba dengan pemberian 0,01-30 mM JPH203 selama 1-4 hari (Tabel 4), dibandingkan aktivitas penghambatan proliferasi sel kanker oleh BCH yang cukup rendah, JPH203 secara signifikan menghambat proliferasi sel YD-38 sejak hari pertama sampai hari ke-empat. Sebaliknya, JPH203 dan BCH hanya menghambat sedikit proliferasi NHOKs yang merupakan keratinosit oral normal, atau sel normal pada rongga mulut manusia.

**Tabel 4.** Efek anti-proliferasi JPH203 terhadap sel YD-38 dan NHOKs (Yun *et al.*, 2014).

Hari ke-	JPH203		BCH	
	IC <sub>50</sub> YD-38 (μM)	IC <sub>50</sub> NHOKs (μM)	IC <sub>50</sub> YD-38 (μM)	IC <sub>50</sub> NHOKs (μM)
1.	3,50 ± 0,42	>30	>30	>30
2.	0,69 ± 0,08	28,3 ± 5,9	13,1 ± 3,1	22,4 ± 5,4
3.	0,19 ± 0,02	15,8 ± 2,9	5,7 ± 0,9	11,9 ± 2,2
4.	0,069 ± 0,007	4,1 ± 0,7	1,8 ± 0,3	3,3 ± 0,5



**Gambar 1.** Struktur kimia JPH203 (Choi *et al.*, 2017)

Sejalan dengan semakin meningkatnya kasus kanker di Indonesia maupun secara global, diperlukan teknologi yang lebih canggih untuk mendeteksi serta mengobati kanker secara efektif dan efisien sejak fase awal. Penggunaan PET dengan senyawa radiolabeling diharapkan memberikan informasi mengenai keberadaan sel kanker di dalam tubuh secara cepat dan akurat, sehingga penanganan kanker dapat dilakukan secara efektif dengan meminimalisir efek samping yang ditimbulkan. Dari hasil studi literatur, didapatkan potensi radiofarmaka sebagai pentarget LAT1 yang ditunjukkan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Potensi senyawa radiofarmaka sebagai pentarget LAT1 menggunakan metode analisis *in vivo* dan *in vitro*

Referensi	Senyawa penanda	Senyawa pentarget	Penyakit	Cell line	SUV tumor (g/mL)	SUV lesi inflamasi (g/mL)	Hasil
Watabe <i>et al.</i> , 2017	<sup>11</sup> C-Met	BCH	Tumor otak (glioma)	HEK293	3,4 ± 0,43	1,6 ± 0,11	Sensitivitas dan spesifisitas pencitraan pada tumor otak naik sebesar 83% dan 73,9%, berurutan.
	<sup>18</sup> F-FDG		Kanker dan lesi inflamasi		7,2 ± 2,1	4,6 ± 0,63	FDG-PET terdeteksi cukup tinggi pada tumor dan lesi inflamasi, sehingga cukup suit untuk membedakan keduanya menggunakan <sup>18</sup> F-FDG.
	<sup>18</sup> F-FBPA		Kanker Ginjal		3,2 ± 0,4	1,9 ± 0,19	Pemeriksaan tumor spesifik dengan menggunakan LAT1 dengan akumulasi rendah pada lesi inflamasi.  FBPA-PET berguna untuk membedakan tumor dan inflamasi.
Ikotun <i>et al.</i> , 2013	<sup>89</sup> Zr-DFO	Ab2	Kanker Hati	RH7777	2,2 ± 0,07; setelah 3 hari naik menjadi 3,0 ± 0,24		Menunjukkan agen immunoPET yang potensial untuk pencitraan <i>transporter</i> asam amino spesifik .
Nozaki <i>et al.</i> , 2019	<sup>18</sup> F-FIMP	BCH	Glioblastoma	LNZ308	2,32 ± 0,09	0,96 ± 0,04	Dapat diimplementasikan untuk pencitraan PET pada glioblastoma dan monitoring fase awal hasil terapi kanker.
Haase <i>et al.</i> , 2007	<sup>18</sup> F-OMFD	T2	Adenocarcinoma (Karsinoma sel skuamosa)	FaDu			<sup>18</sup> F-OMFD secara partikel akan stabil sebagai pelacak untuk <i>diagnostic imaging</i> pada karsinoma sel skuamosa kepala dan leher.
Grosu <i>et al.</i> , 2011	<sup>18</sup> F-FET	BCH	Glioma dan metastase otak		2,3 ± 0,9	1,1 ± 0,2	Memberikan informasi diagnosa glioma dan metastase otak melalui pencitraan PET.

SUV merupakan *marker* yang digunakan untuk merefleksikan keagresifan suatu tumor dan merupakan faktor prognostik di beberapa kanker (Hu *et al.*, 2013). Penggunaan SUV sudah umum digunakan untuk melihat hasil pencitraan onkologi secara klinis menggunakan PET (Kinahan & Fletcher, 2010). Semakin kecil nilai SUV, maka semakin jinak pula tumornya, umumnya tumor dianggap jinak jika hasil SUV nya kurang dari 2,0 (Jelercic & Rajer, 2015). Salah satu alat yang umumnya digunakan dalam pencitraan kanker adalah PET. Alat ini merupakan alat pencitraan yang dapat menyajikan data secara kuantitatif mengenai distribusi positron radiofarmaka yang dimasukkan di dalam tubuh (Huang, 2019). Positron ( $\beta^+$ ) merupakan partikel beta yang bermuatan positif dan dapat dipancarkan ketika terdapat banyak proton di dalam suatu atom. Keberadaan sebuah positron hanya bersifat sementara saja. Setelah kehilangan semua energi kinetiknya, interaksinya dengan elektron akan berakhir (Elsinga, 2012).

Pada tahun 2016, Watabe melakukan penelitian mengenai perbandingan nilai SUV antara  $^{18}\text{F}$ -FBPA,  $^{18}\text{F}$ -FDG dan  $^{11}\text{C}$ -MET pada tumor spesifik dengan BCH sebagai inhibitor LAT1 menggunakan alat pendeteksi PET. Percobaan ini dilakukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro* dengan dosis yang diinjeksikan sebesar 2,22 MBq/mmol kepada tikus yang sebelumnya sudah diinjeksikan sel kanker ginjal (HEK293). Hasilnya sel HEK2933 terekspresi stabil di LAT1 maupun LAT2 saat dilakukan pencitraan oleh  $^{18}\text{F}$ -FBPA. LAT2 merupakan salah satu bagian dari *L-type amino acid transporter* yang berperan dalam transportasi sel normal, berkebalikan dengan LAT1 yang mentransfer asam amino kepada sel kanker (D. W. Yun *et al.*, 2014). Namun dari perbandingan SUV lesi inflamasi pada ketiganya, SUV  $^{18}\text{F}$ -FDG menunjukkan nilai yang cukup tinggi. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa kemampuan  $^{18}\text{F}$ -FDG kurang spesifik dalam membedakan antara tumor dan lesi inflamasi (T. Watabe *et al.*, 2016). Pemeriksaan asam amino menggunakan PET, seperti pada  $^{11}\text{C}$ -MET dikembangkan untuk mengatasi kekurangan  $^{18}\text{F}$ -FDG yang spesifisitas antara tumor dan lesi inflamasinya rendah. Senyawa ini di prediksi memiliki spesifisitas tumor yang lebih tinggi dibandingkan  $^{18}\text{F}$ -FDG. Namun berdasarkan penelitian, penggunaan senyawa pentarget BCH ini mempunyai kerugian tersendiri, yaitu nilai pada SUV sel kanker dan SUV sel normal nya masih terbilang cukup tinggi (Watabe *et al.*, 2016).

Senyawa yang berpotensi dalam teranostik kanker dapat digunakan untuk meningkatkan selektivitas dan spesifisitas pencitraan pada sel kanker tanpa melibatkan pencitraan pada sel normal. Kriteria senyawa teranostik kanker yang baik, diantaranya yaitu: (1) memiliki selektivitas yang tinggi terhadap suatu *transporter* asam amino sel kanker, (2) memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  yang rendah, (3) memiliki nilai SUV yang relatif rendah dibandingkan nilai SUV pada sel normal dan lesi inflamasi. Pada penelitian Yun, et al, tahun 2014 didapatkan hasil bahwa nilai  $\text{IC}_{50}$  pada JPH203 lebih rendah

dibandingkan BCH, sehingga penggunaan JPH203 lebih efektif dalam menghambat proliferasi sel kanker (Yun *et al.*, 2014). Selain itu, JPH203 secara selektif menghambat aktivitas LAT1 tanpa menghambat aktivitas LAT2 (Choi *et al.*, 2017). Berdasarkan studi literatur, belum ditemukan penelitian yang menunjukkan nilai SUV dari JPH203, tetapi studi menunjukkan bahwa nilai SUV yang rendah diperoleh pada senyawa dengan aktivitas yang selektif terhadap sel kanker, dan JPH203 memenuhi kriteria tersebut. Sehingga JPH203 ini diharapkan dapat menjadi senyawa baru yang memiliki selektivitas dan spesifisitas yang tinggi dalam senyawa teranostik kanker.

Dari uraian di atas, JPH203 menunjukkan kemampuan sebagai senyawa penghambat LAT1 yang spesifik dan mampu terakumulasi pada sel kanker sehingga diharapkan potensial untuk digunakan pada pemeriksaan PET yang akan meningkatkan selektivitas dan spesifisitas pencitraan sel kanker. Selain itu JPH203 mempunyai  $IC_{50}$  adalah 0,06  $\mu$ M dan 4,1  $\mu$ M di dalam sel kanker usus (HT-29), sel kanker mulut (YD-38), sehingga JPH203 berpotensi untuk dikembangkan sebagai senyawa teranostik kanker.

#### **4. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil tinjauan pustaka menunjukkan bahwa LAT1 sebagai *transporter* asam amino pada sel kanker dapat menghasilkan pencitraan beberapa sel kanker secara akurat dan efektif, seperti pada kanker ginjal, kanker otak, kanker hati, dan glioblastoma. Aktivitas LAT1 sebagai *transporter* asam amino sel kanker dapat dihambat secara selektif oleh JPH203. JPH203 menunjukkan aktivitas penghambatan proliferasi sel kanker secara masif pada beberapa sel kanker, sehingga penggunaan senyawa JPH203 ini dapat dipertimbangkan kembali sebagai target terapi potensial yang dapat digunakan dalam pengembangan senyawa teranostik kanker baru.

#### **Ucapan terimakasih**

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Padjadjaran atas dukungan dana melalui program Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi.

#### **Daftar pustaka**

- Bodoy, S., Martín, L., Zorzano, A., Palacín, M., Estévez, R., & Bertran, J. (2005). Identification of LAT4, a novel amino acid transporter with system L activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280(12), 12002–12011.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Chaturvedi, S., & Mishra, A. K. (2016). Small Molecule Radiopharmaceuticals – A Review of Current

- Approaches. *Frontiers in Medicine*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmed.2016.00005>
- Choi, D. W., Kim, D. K., Kanai, Y., Wempe, M. F., Endou, H., & Kim, J. K. (2017). JPH203, a selective L-type amino acid transporter 1 inhibitor, induces mitochondria-dependent apoptosis in Saos2 human osteosarcoma cells. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 21(6), 599–607.
- Cormerais, Y., Pagnuzzi-Boncompagni, M., Schrötter, S., Giuliano, S., Tambutté, E., Endou, H., Wempe, M. F., Pagès, G., Pouysségur, J., & Picco, V. (2019). Inhibition of the amino-acid transporter LAT1 demonstrates anti-neoplastic activity in medulloblastoma. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(4), 2711–2718.
- Dermime, S. (2014). Carcinogenesis & Mutagenesis Cancer Diagnosis , Treatment and Therapy. *J Carcinogene Mutagene*, 14 (June). <https://doi.org/10.4172/2157-2518.S14-00>
- Elsinga, P. H. (2012). Present and future of PET-radiopharmaceuticals. *Nuclear Medicine Review*, 15(SUPPL.C), 13–16.
- Furuya, M., Horiguchi, J., Nakajima, H., Kanai, Y., & Oyama, T. (2012). Correlation of L-type amino acid transporter 1 and CD98 expression with triple negative breast cancer prognosis. *Cancer Science*, 103(2), 382–389.
- Glaudemans, A. W. J. M., Enting, R. H., Heesters, M. A. A. M., Dierckx, R. A. J. O., Van Rheenen, R. W. J., Walenkamp, A. M. E., & Slart, R. H. J. A. (2013). Value of 11C-methionine PET in imaging brain tumours and metastases. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 40(4), 615–635.
- Globocan. (2019). *New Global Cancer Data : GLOBOCAN 2018*. <https://www.uicc.org/news/new-global-cancer-data-globocan-2018>
- Grosu, A. L., Astner, S. T., Riedel, E., Nieder, C., Wiedenmann, N., Heinemann, F., Schwaiger, M., Molls, M., Wester, H. J., & Weber, W. A. (2011). An interindividual comparison of O-(2-[18F]fluoroethyl)-L- tyrosine (FET)- and L-[methyl- 11C]methionine (MET)-PET in patients with brain gliomas and metastases. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 81(4), 1049–1058.
- Haase, C., Bergmann, R., Fuechtner, F., Hoepfing, A., & Pietzsch, J. (2007). L-type amino acid transporters LAT1 and LAT4 in cancer: Uptake of 3-O-methyl-6-18F-fluoro-L-dopa in human adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in vitro and in vivo. *Journal of Nuclear Medicine*. <https://doi.org/10.2967/jnumed.107.043620>
- Häfliger, P., Graff, J., Rubin, M., Stooss, A., Dettmer, M. S., Altmann, K. H., Gertsch, J., & Charles, R. P. (2018). The LAT1 inhibitor JPH203 reduces growth of thyroid carcinoma in a fully immunocompetent mouse model. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 37(1), 1–15.
- Hayashi, K., & Anzai, N. (2017). Novel therapeutic approaches targeting L-type amino acid transporters for cancer treatment. In *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v9.i1.21>
- Honjo, H., Kaira, K., Miyazaki, T., Yokobori, T., Kanai, Y., Nagamori, S., Oyama, T., Asao, T., & Kuwano, H. (2016). Clinicopathological significance of LAT1 and ASCT2 in patients with surgically resected esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Surgical Oncology*, 113(4), 381–389.
- Hu, S. L., Yang, Z. Y., Zhou, Z. R., Yu, X. J., Ping, B., & Zhang, Y. J. (2013). Role of SUVmax obtained by 18F-FDG PET/CT in patients with a solitary pancreatic lesion: Predicting malignant potential and proliferation. *Nuclear Medicine Communications*, 34(6), 533–539. Huang, Y.-Y. (2019). An Overview of PET Radiopharmaceuticals in Clinical Use: Regulatory, Quality and Pharmacopeia Monographs of the United States and Europe. *Nuclear Medicine Physics*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79227>
- Ikotun, O. F., Marquez, B. V., Huang, C., Masuko, K., Daiji, M., Masuko, T., McConathy, J., & Lapi, S. E. (2013). Imaging the L-Type Amino Acid Transporter-1 (LAT1) with Zr-89 ImmunoPET. *PLoS ONE*, 8(10), 1–9.
- Jelercic, S., & Rajer, M. (2015). The role of PET-CT in radiotherapy planning of solid tumours.

- Radiology and Oncology*, 49(1), 1–9.
- Kaira, K., Kawashima, O., Endoh, H., Imaizumi, K., Goto, Y., Kamiyoshihara, M., Sugano, M., Yamamoto, R., Osaki, T., Tanaka, S., Fujita, A., Imai, H., Kogure, Y., Seki, Y., Shimizu, K., Mogi, A., Shitara, Y., Oyama, T., Kanai, Y., & Asao, T. (2019). Expression of amino acid transporter (LAT1 and 4F2hc) in pulmonary pleomorphic carcinoma. *Human Pathology*, 84, 142–149.
- Kaira, K., Oriuchi, N., Shimizu, K., Imai, H., Tominaga, H., Yanagitani, N., Sunaga, N., Hisada, T., Ishizuka, T., Kanai, Y., Oyama, T., Mori, M., & Endo, K. (2010). Comparison of l-type amino acid transporter 1 expression and l-[3-18F]- $\alpha$ -methyl tyrosine uptake in outcome of non-small cell lung cancer. *Nuclear Medicine and Biology*, 37(8), 911–916.
- Ke, X., & Shen, L. (2017). Molecular targeted therapy of cancer: The progress and future prospect. *Frontiers in Laboratory Medicine*, 1(2), 69–75.
- Khadir, A., & Tiss, A. (2013). Mutagenesis Proteomics Approaches towards Early Detection and Diagnosis of Cancer. *J Carcinogene Mutagene*, 14. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.S14-002>
- Kinahan, P. E., & Fletcher, J. W. (2010). Positron emission tomography-computed tomography standardized uptake values in clinical practice and assessing response to therapy. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI*, 31(6), 496–505.
- Maimaiti, M., Sakamoto, S., Yamada, Y., Sugiura, M., Rii, J., Takeuchi, N., Imamura, Y., Furihata, T., Ando, K., Higuchi, K., Xu, M., Sazuka, T., Nakamura, K., Kaneda, A., Kanai, Y., Kyprianou, N., Ikehara, Y., Anzai, N., & Ichikawa, T. (2020). Expression of L-type amino acid transporter 1 as a molecular target for prognostic and therapeutic indicators in bladder carcinoma. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58136-x>
- Muto, Y., Furihata, T., Kaneko, M., Higuchi, K., Okunushi, K., Morio, H., Reien, Y., Uesato, M., Matsubara, H., & Anzai, N. (2019). Different response profiles of gastrointestinal cancer cells to an L-type amino acid transporter inhibitor, JPH203. *Anticancer Research*. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13092>
- Namikawa, M., Kakizaki, S., Kaira, K., Tojima, H., Yamazaki, Y., Horiguchi, N., Sato, K., Oriuchi, N., Tominaga, H., Sunose, Y., Nagamori, S., Kanai, Y., Oyama, T., Takeyoshi, I., & Yamada, M. (2015). Expression of amino acid transporters (LAT1, ASCT2 and xCT) as clinical significance in hepatocellular carcinoma. *Hepatology Research*, 45(9), 1014–1022.
- Napolitano, L., Scalise, M., Galluccio, M., Pochini, L., Albanese, L. M., & Indiveri, C. (2015). The International Journal of Biochemistry LAT1 is the transport competent unit of the LAT1 / CD98 heterodimeric amino acid transporter. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 67, 25–33.
- Nikkuni, O., Kaira, K., Toyoda, M., Shino, M., Sakakura, K., Takahashi, K., Tominaga, H., Oriuchi, N., Suzuki, M., Iijima, M., Asao, T., Nishiyama, M., Nagamori, S., Kanai, Y., Oyama, T., & Chikamatsu, K. (2015). Expression of Amino Acid Transporters (LAT1 and ASCT2) in Patients with Stage III/IV Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Pathology and Oncology Research*, 21(4), 1175–1181.
- Nobusawa, A., Kim, M., Kaira, K., Miyashita, G., Negishi, A., Oriuchi, N., Higuchi, T., Tsushima, Y., Kanai, Y., Yokoo, S., & Oyama, T. (2013). Diagnostic usefulness of 18F-FAMT PET and L-type amino acid transporter 1 (LAT1) expression in oral squamous cell carcinoma. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 40(11), 1692–1700.
- Nozaki, S., Nakatani, Y., Mawatari, A., Shibata, N., Hume, W. E., Hayashinaka, E., Wada, Y., Doi, H., & Watanabe, Y. (2019). 18F-FIMP: a LAT1-specific PET probe for discrimination between tumor tissue and inflammation. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52270-x>
- Oda, K., Hosoda, N., Endo, H., Saito, K., Tsujihara, K., Yamamura, M., Sakata, T., Anzai, N., Wempe, M. F., Kanai, Y., & Endou, H. (2010). L-Type amino acid transporter 1 inhibitors inhibit tumor cell growth. *Cancer Science*, 101(1), 173–179.
- Okubo, S., Zhen, H. N., Kawai, N., Nishiyama, Y., Haba, R., & Tamiya, T. (2010). Correlation of l-methyl-11C-methionine (MET) uptake with l-type amino acid transporter 1 in human gliomas. *Journal of Neuro-Oncology*. <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0117-9>



- Peterson, L. (2010). *The concept of mitosis, and the terminology involved, can become easily understood once students engage in hands-on projects*. Lesson Planet.
- Rathore, M. S., & Gupta, V. B. (2010). Functional characterization of amino acid transport system for transport of phenylalanine on mammalian cornea for better ocular drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.
- Rosilio, C., Nebout, M., Imbert, V., Griessinger, E., Neffati, Z., Benadiba, J., Hagenbeek, T., Spits, H., Reverso, J., Ambrosetti, D., Michiels, J. F., Bailly-Maitre, B., Endou, H., Wempe, M. F., & Peyron, J. F. (2015). L-type amino-acid transporter 1 (LAT1): A therapeutic target supporting growth and survival of T-cell lymphoblastic lymphoma/T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 29(6), 1253–1266.
- Salisbury, T. B., & Arthur, S. (2018). The regulation and function of the L-type amino acid transporter 1 (LAT1) in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 1–10.
- Scalise, M., Galluccio, M., Console, L., Pochini, L., & Indiveri, C. (2018). The human SLC7A5 (LAT1): The intriguing histidine/large neutral amino acid transporter and its relevance to human health. *Frontiers in Chemistry*, 6(JUN), 1–12.
- Singh, N., & Ecker, G. F. (2018). Insights into the Structure , Function , and Ligand Discovery of the Large Neutral Amino Acid Transporter 1 , LAT1. *Int. J. Mol. Sci*, 19, 1–32.
- Toyoda, M., Kaira, K., Ohshima, Y., Ishioka, N. S., Shino, M., Sakakura, K., Takayasu, Y., Takahashi, K., Tominaga, H., Oriuchi, N., Nagamori, S., Kanai, Y., Oyama, T., & Chikamatsu, K. (2014). Prognostic significance of amino-acid transporter expression (LAT1, ASCT2, and xCT) in surgically resected tongue cancer. *British Journal of Cancer*, 110(10), 2506–2513.
- Toyoda, M., Kaira, K., Shino, M., Sakakura, K., Takahashi, K., Takayasu, Y., Hideyuki, T., Oriuchi, N., Nikkuni, O., Suzuki, M., Iijima, M., & Norifumi Tsukamoto. (2014). CD98 as a novel prognostic indicator for patients with stage III/IV hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Head and Neck*, 36(10), 1391.
- Toyoshima, J., Kusuhara, H., Wempe, M. F., Endou, H., & Sugiyama, Y. (2013). Investigation of the Role of Transporters on the Hepatic Elimination of an LAT1 Selective Inhibitor JPH203. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(9).
- Uno, K., Kuwabara, H., Terado, Y., Kojima, K., Kawakami, T., Kamma, H., Sakurai, H., Sakamoto, A., & Kurata, A. (2011). Divergent expression of L-type amino acid transporter 1 during uterine cervical carcinogenesis. *Human Pathology*, 42(11), 1660–1666.
- Verma, M. (2012). Personalized medicine and cancer. In *Journal of Personalized Medicine*. <https://doi.org/10.3390/jpm2010001>
- Vogenberg, F. R., Barash, C. I., & Pursel, M. (2010). Personalized Medicine Part 1 : Evolution and Development into Theranostics. *Pharmacy and Therapeutics*, 35(10).
- Wang, Q., & Holst, J. (2015). L-type amino acid transport and cancer: Targeting the mTORC1 pathway to inhibit neoplasia. *American Journal of Cancer Research*, 5(4), 1281–1294.
- Watabe, T., Ikeda, H., Nagamori, S., Wriyasermkul, P., Tanaka, Y., Naka, S., Kanai, Y., Hagiwara, K., Aoki, M., Shimosegawa, E., Kanai, Y., & Hawatzawa, J. (2016). 18F-FBPA as a tumor-specific probe of L-type amino acid transporter 1 ( LAT1 ): a comparison study with 18 F-FDG and 11C-Methionine PET. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 1(259). <https://doi.org/10.1007/s00259-016-3487-1>
- Watabe, Tadashi, Ikeda, H., Nagamori, S., Wriyasermkul, P., Tanaka, Y., Naka, S., Kanai, Y., Hagiwara, K., Aoki, M., Shimosegawa, E., Kanai, Y., & Hatazawa, J. (2017). 18F-FBPA as a tumor-specific probe of L-type amino acid transporter 1 (LAT1): a comparison study with 18F-FDG and 11C-Methionine PET. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 44(2), 321–331.
- WHO. (2019). *Cancer*. [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1)
- Yun, D.-W., Lee, S. A., Park, M.-G., Kim, J.-S., Yu, S.-K., Park, M.-R., Kim, S.-G., Oh, J.-S., Kim, C. S., Kim, H.-J., Kim, J.-S., Chun, H. S., Kanai, Y., Endou, H., Wempe, M. F., & Kim, D. K. (2014). JPH203, an L-Type Amino Acid Transporter 1–Selective Compound, Induces Apoptosis of YD-38 Human Oral Cancer

Cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 124(2), 208–217.

Yun, D. W., Lee, S. A., Park, M. G., Kim, J. S., Yu, S. K., Park, M. R., Kim, S. G., Oh, J. S., Kim, C. S., Kim, H. J., Kim, J. S., Chun, H. S., Kanai, Y., Endou, H., Wempe, M. F., & Kim, D. K. (2014). JPH203, an L-type amino acid transporter 1-selective compound, induces apoptosis of YD-38 human oral cancer cells. *Journal of Pharmacological Sciences*. <https://doi.org/10.1254/jphs.13154FP>

Zhao, Y., Wang, L., & Pan, J. (2015). The role of L-type amino acid transporter 1 in human tumors. *Intractable and Rare Diseases Research*. <https://doi.org/10.5582/irdr.2015.01024>

## Standardization parameters for cocoa pods (*Theobroma cacao* L.)

### Parameter standardisasi kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.)

Nida Isti Azah\*, Resmi Muchtarichie, Yoppi Iskandar

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

\*Corresponding author: [nida.isti@gmail.com](mailto:nida.isti@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pods are a waste from chocolate production which has medicinal benefits. Cocoa pods have scientifically proved to have pharmacological activities.

**Objective:** Standardization of plants to be used as medicine is required to control the quality and ensure the safety, efficacy, and quality.

**Methods:** Data on the standardization parameters of cocoa pods were collected from journals published during the period 2010-2020 by searching in Google, Google Scholar, and Research Gate.

**Results:** Standardization parameters of cocoa pods consisted of macroscopic and microscopic examinations, ash content, solute concentration in solvents, phytochemical screening, and thin layer chromatography.

**Conclusion:** Macroscopic examination showed that the skin of cacao fruit has a brownish-yellow color and purplish red, a specific odor, and a bitter taste with four forms, namely amelonado, angoleta, cundeamor, and calabacil. Microscopic examination showed a collection of stone cells and hair covering. The moisture content of cocoa pods fulfills the requirement which is below 10%. The total ash content is 5.80 - 7.41, and the acid-insoluble ash content is 0.45 - 0.64. The concentration of solute in water is higher than in ethanol with 22.69 and 5.21, respectively. The phytochemical screening showed that cocoa pods have flavonoids, saponins, quinones, tannins, steroids, triterpenoids, monoterpenes, and sesquiterpenes. The thin-layer chromatography indicated the presence of phenolic compounds, catechol tannins, flavonoids, and terpenoids.

**Keywords:** Cocoa pods, standardization, *Theobroma cacao*

#### Intisari

**Latar belakang:** Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan limbah dari produksi cokelat yang bermanfaat sebagai obat dan terbukti secara ilmiah memiliki berbagai aktivitas farmakologi.

**Tujuan:** Standardisasi tanaman yang akan digunakan sebagai obat berguna untuk mengontrol kualitas serta memastikan keamanan, khasiat, dan mutunya.

**Metode:** Data parameter standar kulit buah kakao dikumpulkan dari jurnal yang diterbitkan selama kurun waktu 2010-2020 dengan pencarian menggunakan situs pencarian seperti google, google scholar, dan *researchgate*.

**Hasil:** Parameter standardisasi kulit buah kakao meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, nilai kadar abu, kadar zat terlarut dalam pelarut, penapisan fitokimia, dan kromatografi lapis tipis.

**Kesimpulan:** Pemeriksaan makroskopik, kulit buah kakao memiliki warna kuning kecokelatan dan merah keunguan, bau khas, rasa pahit, dengan empat bentuk yaitu amelonado, angoleta, cundeamor, dan calabacil. Pemeriksaan mikroskopik menunjukkan adanya kumpulan sel batu dan rambut penutup. Kadar air kulit buah kakao sesuai dengan syarat yaitu berada dibawah 10%. Nilai kadar abu total 5,80 - 7,41 dan kadar abu tak larut asam 0,45 - 0,64. Kadar zat terlarut dalam air lebih tinggi dari etanol dengan nilai masing-masing 22,69 dan 5,21. Dari hasil penapisan fitokimia kulit buah kakao menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, kuinon, tannin, steroid, triterpenoid, monoterpen dan seskuiterpen. Pada kromatografi lapis tipis menunjukkan adanya senyawa fenolik, tannin katekol, flavonoid, dan terpenoid.

**Kata kunci :** Kulit buah kakao, standardisasi, *Theobroma cacao*

---

## 1. Pendahuluan

Kakao atau cokelat (*Theobroma cacao* L.) termasuk ke dalam suku Sterculiaceae merupakan tanaman asli Amerika Selatan dan Amerika Tengah dengan habitat asli di hutan tropis Amazon. Nama *Theobroma* memiliki arti *food of Gods*, karena tanaman ini dipercaya sebagai tanaman yang berasal dari dewa. Tanaman ini, pertama kali digunakan bijinya oleh masyarakat Aztec dan Maya kuno untuk diolah menjadi minuman bernama cokelat. Seiring perkembangan zaman, kakao banyak dibudidayakan di berbagai negara (Rusconi & Conti, 2010; Santos *et al.*, 2014). Sampai saat ini penggunaan utama kakao adalah untuk diolah menjadi cokelat yang digunakan dalam industri minuman, makanan, kosmetika, dan lain-lain.

Pada pembuatan cokelat hanya bagian biji saja yang digunakan, sehingga bagian lain dari buah akhirnya menjadi limbah. Jika dilihat dari komposisi buah kakao yang terdiri dari 74% kulit buah, 24% biji, dan 2% plasenta, kulit buah merupakan bagian terbesar dan menjadi limbah terbanyak yang dihasilkan dari produksi cokelat. Limbah kulit cokelat ini jika tidak dikelola dengan baik dapat menyebabkan masalah bagi lingkungan seperti bau tidak sedap dan dapat menyebabkan penyakit *Black pod disease* (Suprapti & Ramlah, 2013).

Meskipun banyak menjadi limbah, kulit buah kakao sebenarnya memiliki beragam manfaat dan salah satunya adalah sebagai obat. Di Indonesia tepatnya di bawah kaki gunung Galunggung, Tasikmalaya, masyarakat Dingga Linggarjati menggunakan kulit buah kakao secara tradisional sebagai penumbuh rambut. Penggunaan secara empiris tersebut didukung oleh hasil yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah kakao dapat menumbuhkan rambut pada hewan uji kelinci (Mustarichie & Hasanah, 2019). Tidak hanya itu, kulit buah kakao juga terbukti memiliki aktivitas farmakologi lain yang terangkum dalam tabel 1.

**Tabel 1.** Aktivitas farmakologi kulit buah kakao

Aktivitas farmakologi	Referensi
Analgesik	(Sari <i>et al.</i> , 2018)
Antibakteri	(Nugroho <i>et al.</i> , 2019; Singh <i>et al.</i> , 2015)
Antifungal	(Rachmawaty <i>et al.</i> , 2018)
Antiinflamasi	(Izzuddin & Nurkesuma, 2015; Rahayu <i>et al.</i> , 2020)
Antikerutan	(Abdul Karim <i>et al.</i> , 2016)
Antioksidan	(Jusmiati <i>et al.</i> , 2015; Umri <i>et al.</i> , 2019)

Penggunaan suatu tanaman menjadi obat herbal, selain harus memiliki khasiat yaitu dengan adanya bukti ilmiah mengenai aktivitas farmakologi, juga harus memenuhi syarat obat lainnya yaitu bermutu dan terjamin keamanannya. Pada penggunaan sebagai obatan, tanaman memiliki kelemahan yaitu sulitnya mengontrol kualitas dan keamanan dari bahan yang digunakan sehingga khasiat, mutu serta profil keamanannya menjadi bervariasi (BPOM, 2019; Ghosh, 2018).

Salah satu solusi dari masalah kualitas tersebut dengan dilakukannya standardisasi. Standardisasi adalah suatu proses yang dilakukan untuk menentukan standar atau karakter yang berkaitan dengan parameter, kualitatif dan nilai kuantitatif yang memberikan jaminan terhadap kualitas, kemanjuran, keamanan dan reproduktifitas (Kunle *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, kulit buah kakao berpotensi untuk dikembangkan menjadi Obat Herbal Terstandar (OHT), dimana diperlukan bahan baku yang terstandardisasi untuk dapat dikategorikan sebagai OHT. Oleh karena itu, pengujian parameter farmakognosi perlu dilakukan untuk memperoleh kelengkapan informasi yang berguna dalam pengembangan dan pemanfaatan kulit buah kakao sebagai obat yang memenuhi syarat obat yaitu aman, berkualitas, dan berkhasiat. Dalam kajian pustaka ini akan disajikan data mengenai pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, kadar zat terlarut dalam pelarut (air dan etanol), kadar air, kadar abu total, kadar abu tak larut asam, uji cemaran logam, dan uji aflatoxin. Selain itu perlu diketahui kandungan dari tanaman yang akan digunakan sebagai obat karena berperan penting terhadap aktivitas farmakologi dari tanaman tersebut (Nikam *et al.*, 2012; WHO, 2011).

## **2. Metodologi penelitian**

Sumber data yang digunakan dalam penulisan artikel ini adalah jurnal yang diterbitkan selama rentang waktu 2010 – 2020 atau 10 tahun terakhir. Pencarian dilakukan dengan menelusuri situs pencarian Google, Google Scholar, dan Research Gate dengan kata kunci “Kulit Buah Kakao”, “Cacao Pod”, “Cacao Shell”, “Cacao Skin Peel”, “Pharmacognostic of *Theobroma cacao*”, “*Theobroma cacao* L.”, “Parameter Standar”, dan “Standardisasi”. Kriteria inklusi adalah jurnal mengenai aktivitas farmakologi dari kulit buah kakao dan memiliki parameter standar dari kulit buah kakao. Sedangkan, kriteria eksklusi meliputi jurnal yang tidak terverifikasi dan tidak memiliki data parameter yang diinginkan.

### 3. Hasil dan pembahasan

#### 3.1. Evaluasi makroskopik

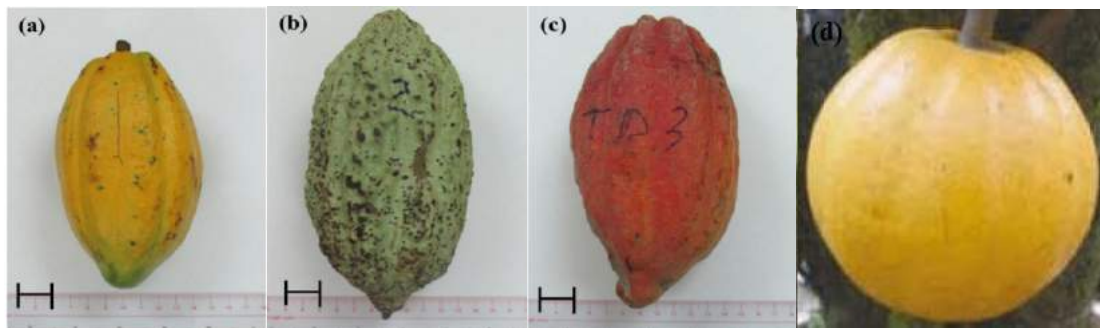
Evaluasi makroskopik merupakan pemeriksaan pertama sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap bahan yang digunakan. Pemeriksaan ini dilakukan dengan cepat dan sederhana karena hanya menggunakan panca indra yang dimiliki manusia. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi bau, bentuk, karakteristik permukaan, rasa, tekstur, ukuran, dan warna. Pada saat pemeriksaan makroskopik diperlukan sampel yang sudah dipastikan kebenarannya untuk digunakan sebagai pembanding. Jika, ditemukan perbedaan yang signifikan dari sampel pembanding maka bahan tersebut dianggap tidak memenuhi persyaratan. Tetapi, karena penilaian ini dilakukan secara subyektif, pencampuran atau pemalsuan sangat mungkin terjadi dan dibuat mirip dengan bahan asli, maka perlu untuk dilakukan evaluasi lanjutan dengan menggunakan mikroskop dan analisis fisikokimia (WHO, 2011).

Hasil pemeriksaan makroskopik dari kulit buah kakao terdapat pada tabel 2. Buah kakao memiliki ciri organoleptik yang beragam, hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, jenis dan varietas kakao yang digunakan, lokasi penanaman, dan waktu panen. Kakao memiliki varietas yang beragam, tetapi terdapat tiga varietas utama dari kakao yaitu criollo, forastero, dan trinitario (persilangan antara criollo dan forastero) (Qin *et al.*, 2016; Trognitz *et al.*, 2011).

Buah kakao memiliki empat bentuk yaitu amelonado, angoleta, cundeamor, dan calabacil yang terdapat pada gambar 1. Angoleta memiliki karakteristik bergerigi dalam, berkulit, dengan persegi di ujung tangkai. Ciri amelonado permukaan kulit buah halus, alur dangkal, berbentuk seperti melon, dengan ujung tumpul dan leher seperti botol. Calabacillo memiliki bentuk yang kecil dan hampir bulat. Cundeamor berbentuk seperti angoleta dengan leher berbentuk botol (Malhotra, 2017).

**Tabel 2.** Evaluasi makroskopik kulit buah kakao

No	Asal tanaman	Organoleptik					Referensi
		Warna	Bau	Bentuk	Rasa	Ukuran	
1.	Rajamdanala, Cipatat, Jawa Barat, Indonesia	Kuning Kecokelatan	Bau Khas	-	Pahit	P : ±18 cm L : ± 9 cm	(Azizah <i>et al.</i> , 2014)
2.	Ea Kar, Dak Lak, Vietnam	Kuning	-	Angoleta	-	-	(Thi <i>et al.</i> , 2016)
3.	Trangbom-Dongnai, Vietnam	Merah keunguan	-	Amelonado	-	-	(Thi <i>et al.</i> , 2016)

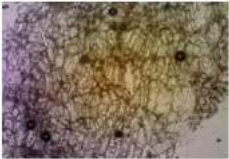



**Gambar 1.** Bentuk Buah Kakao (a) Amelonado, (b) Angoleta, (c) Cundeamor (d) Calabacillo (Thi *et al.*, 2016)

### 3.2. Evaluasi mikroskopik

Evaluasi mikroskopik termasuk dalam pemeriksaan awal yang menunjang hasil pemeriksaan makroskopik. Pemeriksaan mikroskopis ini diperlukan untuk mengidentifikasi bahan yang digunakan terutama bahan-bahan yang sudah rusak atau berbentuk bubuk. Kelemahan dari pemeriksaan mikroskopik ini adalah tidak selalu dapat memberikan identifikasi lengkap. Tetapi, jika didukung pemeriksaan menggunakan metode analisis lainnya, evaluasi mikroskopik dapat memberikan bukti pendukung yang berharga (WHO, 2011). Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan bantuan mikroskop *binocular* menggunakan pelarut kloralhidrat dengan perbesaran 100 kali. Pada kulit buah kakao pemeriksaan mikroskopik mendapatkan hasil yaitu tampak bagian epikarp yang ditunjukkan dengan adanya kumpulan sel batu pada bahan segar. Sedangkan pada serbuk simplisia kering kulit buah kakao tampak fragmen rambut penutup. Hasil uji mikroskopik kulit buah kakao terdapat di dalam tabel 3 (Azizah *et al.*, 2014).

**Tabel 3.** Evaluasi mikroskopik kulit buah kakao

No.	Asal tanaman	Mikroskopik	Referensi
1.	Rajamdanala, Cipatat, Jawa Barat, Indonesia	 Kumpulan sel batu  Rambut penutup	(Azizah <i>et al.</i> , 2014)

### 3.3. Evaluasi fisika

Persyaratan kadar abu total, kadar abu tak larut asam, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol dan kadar air ditunjukkan pada tabel 4. Kadar abu total merupakan jumlah total residu dari hasil pengabuan sampel tanaman. Sisa abu tersebut dapat berupa abu fisiologis yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri maupun abu non-fisiologis dari bahan asing yang menempel pada permukaan tanaman seperti tanah atau pasir. Dari pengujian kadar abu total ini didapatkan gambaran mengenai senyawa jumlah anorganik terkandung dalam sampel yang tidak habis setelah proses pengabuan. Selain itu, kadar abu juga dapat digunakan untuk memastikan kualitas, keaslian, dan kemurnian dari suatu bahan. Kadar abu kulit buah kakao asal Cipatat dan Tasikmalaya masing-masing 7,4109 dan 5,80 (Handayani *et al.*, 2018; Mulla & Swamy, 2010).

**Tabel 4.** Evaluasi fisika kulit buah kakao

Asal	Kadar abu total	Kadar abu tidak larut asam	Kadar sari larut air	Kadar sari larut etanol	Kadar air	Referensi
Rajamdanala, Cipatat, Jawa Barat, Indonesia	7,4109	0,454	22,6917	5,206	5,2068	(Azizah <i>et al.</i> , 2014)
Kaki Gunung Galunggung, Tasikmalaya, Jawa Barat, Indonesia	5,80	0,64	-	-	8,60	(Mustarichie & Hasanah, 2019)

Kadar abu tak larut asam dilakukan menggunakan abu hasil pengujian kadar abu total yang dididihkan dalam asam klorida. Penggunaan asam klorida berujuan untuk melarutkan logam organik, sisa zat yang tidak terlarut biasanya merupakan silikat dari tanah atau pasir. Nilai kadar abu dan kadar abu tak larut asam tersebut berhubungan dengan kadar logam sehingga semakin tinggi nilai kadar abu maka kandungan logam yang terkandung juga semakin tinggi. Kadar abu tak larut asam kulit buah kakao asal Cipatat adalah 0.454 dan Tasikmalaya 0,64 (Handayani *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2013).

Kadar zat terlarut dalam suatu pelarut menyatakan jumlah pelarut yang dapat tertarik ke dalam pelarut. Nilai zat terlarut dalam suatu pelarut yang rendah dapat menunjukkan adanya penambahan bahan pakai, pemalsuan, atau adanya kesalahan selama proses pengeringan atau penyimpanan. Pada penelitian yang dilakukan terhadap kulit buah kakao asal Tasikmalaya nilai zat terlarut dalam air lebih tinggi dari etanol (Bhargava *et al.*, 2013).



Kadar air dalam bahan memiliki fungsi untuk memastikan kualitas sampel selama masa penyimpanan. Jika suatu bahan mengandung kadar air yang terlalu tinggi, maka jamur, bakteri, dan kapang dapat tumbuh dengan mudah sehingga dapat merusak kualitas dari bahan yang digunakan. Selain itu, kadar air juga memengaruhi bahan pada saat akan digunakan formulasi, jika mengandung kadar air yang terlalu tinggi maka akan menyebabkan kemunduran pada kualitas (Bhargava *et al.*, 2013). Kadar air yang baik memiliki persyaratan kurang dari 10%, kulit buah kakao yang berasal dari Cipatat dan Tasikmalaya sesuai dengan persyaratan.

#### 3.4. Uji cemaran logam

Logam berat adalah unsur alami yang memiliki berat atom dan massa jenis yang tinggi setidaknya 5 kali lebih besar dari air. Logam berat ini banyak terdapat di lingkungan, baik itu di udara, tanah, maupun air. Industrialisasi dan urbanisasi semakin meningkatkan kontribusi keberadaan logam berat di biosfer. Toksisitas logam berat pada tanaman bervariasi tergantung pada spesies tanaman, jenis logam, konsentrasi, bentuk kimia, komposisi tanah dan pH, karena banyak logam berat dianggap penting untuk pertumbuhan tanaman (Nagajyoti *et al.*, 2010; Tchounwou *et al.*, 2012).

Logam berat yang paling umum dijumpai dan dapat menimbulkan masalah jika dikonsumsi oleh manusia adalah arsen, kadmium, merkuri, dan timbal. Logam arsen (As) dapat menyebabkan masalah serius pada sistem syaraf karena otak merupakan salah satu target dari toksisitas arsenik. Arsen dapat dengan mudah melintasi sawar otak dan mendistribusikan dirinya ke berbagai bagian, tetapi akumulasi tertinggi yang diamati terdapat pada kelenjar pituitari. Keracunan arsen ini dapat memengaruhi konsentrasi hingga menyebabkan kerusakan otak (Kumar *et al.*, 2014; Sánchez-Peña *et al.*, 2010).

Salah satu penyakit yang disebabkan dari keracunan kadmium adalah *Itai-itai disease*. Penyakit ini menyerang tulang dimana kadmium menyebabkan terjadinya demineralisasi tulang, menghambat prokolagen C-proteinase, dan produksi kolagen. Kadmium kemudian dapat menyebabkan terjadinya osteoporosis, kelainan bentuk tulang, hingga patah tulang. Selain itu, kadmium juga dapat memicu terjadinya kerusakan ginjal, sistem reproduksi, dan kardiovaskular (Fagerberg *et al.*, 2015; Pizent *et al.*, 2012; Rafati Rahimzadeh *et al.*, 2017).

Penyakit lain yang dapat disebabkan akibat keracunan logam berat adalah *minamata disease* yang disebabkan oleh merkuri. *Minamata disease* merupakan penyakit akibat keracunan merkuri yang dapat menyebabkan kelainan fungsi saraf. Merkuri umumnya masuk ke dalam tubuh melalui makanan dalam bentuk metilmerkuri (MeHg). Setelah masuk, merkuri akan berikatan dengan protein kemudian diedarkan oleh darah ke berbagai organ termasuk otak. Pengendapan merkuri di

otak tersebut akan menyebabkan masalah seperti penurunan ketajaman visual, gangguan sensorik, motorik, dan pendengaran. Pada kasus yang lebih parah. *Minamata disease* ini dapat menyebabkan kecacatan permanen hingga kematian (Eto *et al.*, 2010; Nogara *et al.*, 2019).

Logam timbal (Pb) yang masuk ke dalam tubuh dapat diekskresikan oleh urin, tetapi tidak semua timbal akan diekskresikan. Timbal sisa tersebut akan mengikat sel darah merah, didistribusikan ke seluruh jaringan lunak tubuh, dan akhirnya terakumulasi dalam di dalam berbagai organ. Akumulasi logam timbal dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada ginjal, saraf pusat, reproduksi, dan kardiovaskular (Gillis *et al.*, 2012; Mason *et al.*, 2014).

Hasil pengujian dari cemaran logam yang terkandung pada kulit kakao dari beberapa daerah terdapat di dalam Tabel 5. Dari hasil pencarian yang telah dilakukan, data mengenai kandungan logam berat dalam kulit buah kakao masih sangat terbatas. Pada kulit buah kakao yang berasal dari Nigeria menunjukkan kandungan timbal yang memenuhi persyaratan. Tetapi untuk kadmium baik itu di Karibian maupun Ekuador menunjukkan nilai cemaran yang melebihi batas persyaratan.

**Tabel 5.** Uji cemaran logam

No.	Asal daerah	Pb (ppm)	Cd (ppm)	As (ppm)	Hg (ppm)	Referensi
1.	Umudike, Nigeria	0,03	-	-	-	(Olim <i>et al.</i> , 2020)
2.	Trinidad dan Tobago, Karibian	-	0,53 – 4,49	-	-	(Ramtahal <i>et al.</i> , 2016)
3.	Esmeraldas, Ecuador	-	0,34 – 1,96	-	-	(Barraza <i>et al.</i> , 2017)
	Syarat	≤ 10	≤ 0,3	≤ 5	≤ 0,5	(BPOM, 2019)

Keterangan : Pb (Timbal), Cd (Kadmium), As (Arsenik), Hg (Merkuri)

### 3.5. Uji aflatoksin

Aflatoksin adalah mikotoksin yaitu metabolit sekunder sangat beracun, teratogenik, dan karsinogenik yang diproduksi oleh jamur genus *Aspergillus*. Aflatoksin dapat mencemari bahan makanan dan apabila dikonsumsi oleh manusia dapat menyebabkan masalah kesehatan serius. Terdapat berbagai tipe aflatoksin, tetapi B1, B2, G1, dan G2 merupakan spesies yang paling banyak mencemari bahan makanan. Aflatoksin B1 merupakan yang paling berbahaya karena di hati akan diaktifkan oleh enzim sitokrom p450, kemudian dikonversi menjadi AFB1-8,9-epoksida, yang menghasilkan efek karsinogenik dengan menciptakan peroksidase di dalam ginjal. Dari hasil pengujian aflatoksin kulit buah kakao asal Tafo, Ghana menunjukkan nilai yang kecil dan tidak melebihi batas yang dipersyaratkan (Lee *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2015).

Nilai persyaratan aflatoksin paling umum mengatur kadar cemaran aflatoksin B1 dan aflatoksin total. Di Indonesia sendiri batas aflatoksin B1 yang diperbolehkan untuk penggunaan tanaman sebagai obat adalah  $\leq 5 \mu\text{g}/\text{kg}$  dan aflatoksin total sebesar kurang dari  $\leq 20 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Mengacu pada persyaratan tersebut kulit buah kakao yang berasal dari Ghana memenuhi persyaratan dengan aflatoksin B1 sebesar  $0,04 \mu\text{g}/\text{kg}$ , aflatoksin B2 sebesar  $0,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ , dan aflatoksin G1 dan G2 sejumlah  $0,6 \mu\text{g}/\text{kg}$  (Adamafio *et al.*, 2011).

### 3.6. Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia berguna untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terkandung di dalam suatu tanaman dan berguna untuk menelusuri potensi farmakologinya. Pengujian ini biasanya dilakukan dengan menggunakan metode dan reagen sederhana. Berdasarkan hasil penelusuran data yang dilakukan, dapat ditunjukkan adanya variasi kandungan dari kulit buah kakao (tabel 6). Pada pengujian alkaloid kulit buah kakao yang berasal dari Jawa Barat, Sulawesi Barat, Sulawesi Selatan, dan Sumatera tidak mengandung senyawa tersebut. Perbedaan kandungan senyawa tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti usia dan waktu panen tanaman serta pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan (Kigigha & Zige, 2013).

**Tabel 6.** Penapisan fitokimia kulit buah kakao

No.	Asal	Pelarut	Metode	A	F	Sp	P	T	K	MS	St	Tr	Referensi
1.	Tasikmalaya, Jawa Barat, Indonesia	Etanol	Maserasi	-	+	+	+	+	-	+	+	+	(Mustarichie & Hasanah, 2019)
2.	Poliwalimdanar, Sulawesi Barat, Indonesia	Metanol	Maserasi	-	-	+	N A	+	N A	NA	-	+	(Pappa <i>et al.</i> , 2019)
3.	Toraja Utara, Sulawesi Selatan, Indonesia	Metanol	Maserasi	-	-	+	N A	+	N A	NA	-	+	(Pappa <i>et al.</i> , 2019)
4.	Sumatera, Indonesia	Metanol	Maserasi	-	-	-	+	N A	N A	NA	+	+	(Sihombing <i>et al.</i> , 2015)
5.	Rajamandala, Cipatat, Jawa Barat, Indonesia	Metanol	Soxhlet	+	+	+	+	+	+	+	-	-	(Azizah <i>et al.</i> , 2014)
6.	Lawe Loning, Lawe Sigala-Gala, Aceh, Indonesia	Metanol	Maserasi	+	+	+	+	N A	N A	NA	-	-	(Ginting <i>et al.</i> , 2019)

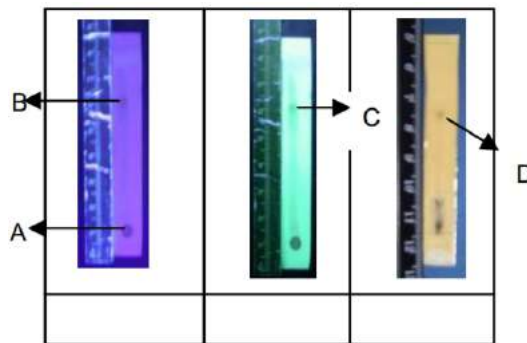
Keterangan : (A) Alkaloid, (F) Flavonoid, (Sp) Saponin, (P) Polifenol, (T) Tanin, (K) Kuinon, (M&S) Monoterpen dan Sesquiterpen, (St) Steroid, (Tr) Triterpenoid, (+) Hasil Positif, (-) Hasil Negatif, (NA) Tidak Diujikan.

Deteksi menggunakan KLT diperlihatkan pada tabel 7 dan gambar 2. Pada KLT dengan eluen toluen:aseton:asam formiat (3:3:0,5) dengan pereaksi Liebermann-Burchard menimbulkan warna mantap dengan adanya fluoresensi hijau atau biru pada pembacaan di lampu UV 366 yang

menunjukkan adanya senyawa terpenoid. Penyemprotan bercak dengan menggunakan Vanilin-HCl menghasilkan warna merah yang menunjukkan adanya senyawa tannin katekol. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan adanya fluoresensi kuning di bawah lampu UV 366 setelah disemprot dengan  $\text{AlCl}_3$ . Pada KLT dengan menggunakan eluen butanol : asam asetat glasial :air (4:1:5) noda berfluorosensi di UV 254 dan 366 nm menunjukkan adanya gugus kromofor dan ikatan rangkap terkonjugasi. Kemudian visualisasi menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  menunjukkan adanya senyawa fenolik yang ditandai dengan warna noda hijau kebiruan (Loppies & Yumas, 2014).

**Tabel 7.** Kromatogram ekstrak kulit buah kakao

No.	Asal Daerah	Fase Diam	Eluen	Pereaksi	Hasil	Referensi
1.	Sengkang, Sulawesi Selatan	Silika Gel GF <sub>254</sub>	Butanol : Asam Asetat Glasial : Air (4:1:5)	$\text{FeCl}_3$	Senyawa Fenolik	(Mita, 2015)
2.	Makassar, Sulawesi Selatan	Silika Gel GF <sub>254</sub>	Toluen : Aseton : Asam Formiat (3:3:0,5)	Liebermann-Burchard Vanilin-HCl $\text{AlCl}_3$	Terpenoid Tanin Katekol Flavonoid	(Loppies & Yumas, 2014)



**Gambar 2.** Kromatografi Lapis Tipis Eluen Butanol : Asam Asetat Glasial : Air ( 4:1:5) (a) tempat penotolan; (b) noda tampak pada UV 366; (c) noda tampak pada UV 254;(d) noda tampak  $\text{FeCl}_3$  (Mita, 2015)

Senyawa flavonoid yang terkandung di dalam kulit buah kakao dapat berhubungan dengan adanya aktivitas antioksidan sebab flavonoid merupakan senyawa yang sangat tertarik pada radikal peroksida lipid sehingga menghambat proses oksidasi lipid. Selain memiliki aktivitas sebagai antioksidan, flavonoid juga diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri, analgesik, antiinflamasi, dan antikanker (Abdul Karim *et al.*, 2016; Mansourabadi *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2013). Pada penelitian lebih lanjut yang dilakukan oleh Abdul Karim *et al.*, (2014) menggunakan LC-MS flavonoid yang terkandung di dalam kulit buah kakao adalah rhamnetin, flavon, kaempferol, linarin, dan acacetin.

Saponin merupakan senyawa glikosida yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan buih dan menghemolisis darah. Senyawa saponin memiliki dua sisi yaitu polar dan nonpolar yang memiliki permukaan aktif. Pada saat pengocokan dengan air, saponin akan membentuk misel yang tampak seperti buih. Hasil positif dari pengujian saponin adalah buih yang bertahan selama kurang lebih 10 menit dan tetap ada setelah penambahan HCl. Saponin memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antidiabetik, sitotoksik, antispasmodik, antioksidan, antihelminik (Ayaz *et al.*, 2014; Rachman *et al.*, 2015).

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pemeriksaan parameter standardisasi kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat ditarik kesimpulan yaitu padapemeriksaan makroskopik, kulit buah kakao memiliki warna kuning kecokelatan dan merah keunguan, bau khas, rasa pahit, dengan empat bentuk yaitu amelonado, angoleta, cundeamor, dan calabacil. Pemeriksaan mikroskopik menunjukkan adanya kumpulan sel batu dan rambut penutup. Kadar air kulit buah kakao sesuai dengan syarat yaitu berada dibawah 10%. Nilai kadar abu total 5,80 - 7,40 dan kadar abu tak larut asam 0,45 - 0,64. Kadar zat terlarut dalam air lebih tinggi dari etanol dengan nilai masing-masing 22,69 dan 5,21. Dari hasil penapisan fitokimia kulit buah kakao menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, kuinon, tannin, steroid, triterpenoid, monoterpen dan seskuiterpen. Pada kromatografi lapis tipis menunjukkan adanya senyawa fenolik, tannin katekol, flavonoid, dan terpenoid.

#### Daftar pustaka

- Abdul Karim, A., Azlan, A., Ismail, A., Hashim, P., Abd Gani, S. S., Zainudin, B. H., & Abdullah, N. A. (2016). Efficacy of cocoa pod extract as antiwrinkle gel on human skin surface. *J Cosmet Dermatol*, 15(3), 283-295. doi:10.1111/jocd.12218
- Adamafo, N. A., Ayombil, F., & Tano-Debrah, K. (2011). Microbial detheobromination of cocoa (*Theobroma cacao*) pod Husk. *Asian. J. Biochem*, 6, 200-207. doi:10.3923/ajb.2011.200.207
- Ayaz, M., Junaid, M., Subhan, F., Ullah, F., Sadiq, A., Ahmad, S., Imran, M., Kamal, Z., Hussain, S., & Shah, S. M. (2014). Heavy metals analysis, phytochemical, phytotoxic and anthelmintic investigations of crude methanolic extract, subsequent fractions and crude saponins from *Polygonum hydropiper* L. *BMC complementary and alternative medicine*, 14, 465. doi:10.1186/1472-6882-14-465
- Azizah, D., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan kadar flavonoid metode AlCl<sub>3</sub> pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2. doi:10.26874/kjif.v2i2.14
- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A., & Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229, 950-963. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080>
- Bhargava, V., Saluja, A. K., & Dholwani, K. (2013). Detection of Heavy Metal Contents and Proximate Analysis of roots of *Anogeissus latifolia*. 1, 61.
- BPOM. (2019). *Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta: BPOM

- Eto, K., Marumoto, M., & Takeya, M. (2010). The pathology of methylmercury poisoning (Minamata disease): The 50th Anniversary of Japanese Society of Neuropathology. *Neuropathology*, 30(5), 471-479. doi:10.1111/j.1440-1789.2010.01119.x
- Fagerberg, B., Barregard, L., Sallsten, G., Forsgard, N., Ostling, G., Persson, M., Borné, Y., Engström, G., & Hedblad, B. (2015). Cadmium exposure and atherosclerotic carotid plaques--results from the Malmö diet and Cancer study. *Environ Res*, 136, 67-74. doi:10.1016/j.envres.2014.11.004
- Ghosh, D. (2018). Quality issues of herbal medicines: internal and external factors. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*, 11. doi:10.15406/ijcam.2018.11.00350
- Gillis, B. S., Arbieva, Z., & Gavin, I. M. (2012). Analysis of lead toxicity in human cells. *BMC Genomics*, 13, 344. doi:10.1186/1471-2164-13-344
- Ginting, B., Prihutama, I., Saidi, N., & Astryna, S. (2019). Isolation and activity antioxidant test of cocoa pod husk ethyl asetat extracts (Theobroma cacao L.). *Jurnal Natural*, 19, 49-53. doi:10.24815/jn.v19i2.12568
- Handayani, S., Kadir, A., & Masdiana, M. (2018). Profil fitokimia dan pemeriksaan farmakognostik daun anting-anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5, 258-265. doi:10.33096/jffi.v5i1.317
- Izzuddin, A., & Nurkesuma, A. (2015). *The potential of cocoa (Theobroma cacao l.) pods extract in periodontal dressing to rabbit gingival wound healing.*
- Jusmiati, J., Rusli, R., & Rijai, L. (2015). Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Kakao Masak dan Kulit Buah Kako Muda. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1, 34-39. doi:10.25026/jsk.v1i1.13
- Kigigha, L. T., & Zige, D. V. (2013). *Activity of chromolaena odorata on enteric and superficial etiologic bacterial agents.*
- Kim, D., Kim, B., Yun, E., Kim, J., Chae, Y., & Park, S. (2013). Statistical quality control of total ash, acid-insoluble ash, loss on drying, and hazardous heavy metals contained in the component medicinal herbs of "Ssanghwatang", a widely used oriental formula in Korea. *Journal of Natural Medicines*, 67(1), 27-35. doi:10.1007/s11418-012-0640-4
- Kumar, S. R., Priyatharshni, S., Babu, V. N., Mangalaraj, D., Viswanathan, C., Kannan, S., & Ponpandian, N. (2014). Quercetin Conjugated Superparamagnetic Magnetite Nanoparticles for In-vitro Analysis of Breast Cancer Cell Lines for Chemotherapy Applications. *J Colloid Interface Sci*, 436, 234-242. doi:10.1016/j.jcis.2014.08.064
- Kunle, O., Folashade, Egharevba, H., Omoregie, & Ochogu, P. (2012). Standardization of herbal medicines -A review. *Internationa Journal of Biodiversity and Conservation*, 4, 101-112.
- Lee, J., Her, J. Y., & Lee, K. G. (2015). Reduction of aflatoxins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, and G<sub>2</sub>) in soybean-based model systems. *Food Chem*, 189, 45-51. doi:10.1016/j.foodchem.2015.02.013
- Loppies, J. E., & Yumas, M. (2014). Ekstraksi Komponen Aktif Kulit Buah Kakao dan Pemanfaatannya sebagai Bahan Pengawet Alami Pada Produk Makanan. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 9(2), 9.
- Ma, X., Wang, W., Chen, X., Xia, Y., Duan, N., Wu, S., & Wang, Z. (2015). Selection, characterization and application of aptamers targeted to Aflatoxin B<sub>2</sub>. *Food Control*, 47, 545-551. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.037>
- Malhotra, S. (2017). Genetic resources of cocoa (*Theobroma cacao* L.) and its utilization- An Appraisal. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 77, 199-213. doi:10.5958/0975-6906.2017.00027.X
- Mansourabadi, A. H., Sadeghi, H. M., Razavi, N., & Rezvani, E. (2015). Anti-inflammatory and Analgesic Properties of Salvigenin, *Salvia officinalis* Flavonoid Extracted. *Advanced Herbal Medicine*, 1, 31-41.
- Mason, L. H., Harp, J. P., & Han, D. Y. (2014). Pb neurotoxicity: neuropsychological effects of lead toxicity. *Biomed Res Int*, 2014, 840547. doi:10.1155/2014/840547
- Mita, N. (2015). Formulasi Krim dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Berkhasiat Antioksidan. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3, 12-21. doi:10.25026/jtpc.v3i1.83
- Mulla, S., & Swamy, P. (2010). Preliminary Pharmacognostical And Phytochemical Evaluation of *Portulaca quadrifida* Linn. *International Journal of PharmTech Research*, 2.
- Mustarichie, R., & Hasanah, A. N. (2019). Anti-aloppecia activity of waste cacao (*Theobroma cacao* L.) peels. *Drug Invention Today*, 11(9), 6.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Tvm, S. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199-216. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 199-216. doi:10.1007/s10311-010-0297-8
- Nikam, P. H., Kareparamban, J., Jadhav, A., & Kadam, V. (2012). Future trends in standardization of herbal drugs. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2, 38-44. doi:10.7324/JAPS.2012.2631

- Nogara, P. A., Oliveira, C. S., Schmitz, G. L., Piquini, P. C., Farina, M., Aschner, M., & Rocha, J. B. T. (2019). Methylmercury's chemistry: From the environment to the mammalian brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1863(12), 129284. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.01.006>
- Nugroho, S., Rukmo, M., Prasetyo, E., & Yuanita, T. (2019). Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao) 6,25% dan NaOCl 2,5% Terhadap Bakteri Streptococcus sanguinis. *Conservative Dentistry Journal*, 9, 19. doi:10.20473/cdj.v9i1.2019.19-21
- Olim, D., Afu, S., Adie, P., & Akpa, E. (2020). Adsorption kinetics of Copper, Lead and Zinc by Cow Dung, Poultry Manure and Cocoa (Theobroma Cacao) Pod. 2020.
- Pappa, S., Jamaluddin, A. W., & Ris, A. (2019). Kadar tanin pada kulit buah kakao (Theobroma cacao l.) Kabupaten Paliwalimandar dan Toraja Utara. *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*(2), 92-101%V 107. Retrieved from <https://ojs.unud.ac.id/index.php/cakra/article/view/56181>
- Pizent, A., Tariba, B., & Živković, T. (2012). Reproductive toxicity of metals in men. *Arh Hig Rada Toksikol*, 63 Suppl 1, 35-46. doi:10.2478/10004-1254-63-2012-2151
- Qin, X.-W., Lai, J.-X., Tan, L.-H., Hao, C.-Y., Li, F.-P., He, S.-Z., & Song, Y.-H. (2016). Characterization of volatile compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seeds ( Theobroma cacao L.) in China. *International Journal of Food Properties*, 20. doi:10.1080/10942912.2016.1236270
- Rachman, A., Wardatun, S., & Weandarlina, I. Y. (2015). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis). *Jurnal MIPA*, 1(1), 6.
- Rachmawaty, M. nisa, A., Hasri, Pagarra, H., Hartati, & Maulana, Z. (2018). *Active Compounds Extraction of Cocoa Pod Husk (Thebroma Cacao l.) and Potential as Fungicides*.
- Rafati Rahimzadeh, M., Rafati Rahimzadeh, M., Kazemi, S., & Moghadamnia, A.-A. (2017). Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian journal of internal medicine*, 8(3), 135-145. doi:10.22088/cjim.8.3.135
- Rahayu, Y. C., Yuwono, B., & Wandansari, A. (2020). The effectiveness of proanthocyanidins cacao pods (Theobroma cacao L.) on increasing socket epithelial thickness post tooth extraction in wistar rats. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 5(1), 5.
- Ramtahal, G., Chang-Yen, I., Bekele, I., Bekele, F., Wilson, L., Maharaj, K., & Harrynanan, L. (2016). Relationships between Cadmium in Tissues of Cacao Trees and Soils in Plantations of Trinidad and Tobago. *Food and Nutrition Sciences*, 07, 37-43. doi:10.4236/fns.2016.71005
- Rusconi, M., & Conti, A. (2010). Theobroma cacao L., the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacol Res*, 61(1), 5-13. doi:10.1016/j.phrs.2009.08.008
- Sánchez-Peña, L. C., Petrosyan, P., Morales, M., González, N. B., Gutiérrez-Ospina, G., Del Razo, L. M., & Gonshebbatt, M. E. (2010). Arsenic species, AS3MT amount, and AS3MT gene expression in different brain regions of mouse exposed to arsenite. *Environ Res*, 110(5), 428-434. doi:10.1016/j.envres.2010.01.007
- Santos, R. X., Oliveira, D. A., Sodré, G. A., Gosmann, G., Brendel, M., & Pungartnik, C. (2014). Antimicrobial activity of fermented Theobroma cacao pod husk extract. *Genet Mol Res*, 13(3), 7725-7735. doi:10.4238/2014.September.26.10
- Sari, Y. L., Wisudanti, D. D., & Shodikin, M. A. (2018). The Analgesic Effectiveness Test of Cocoa Husk (Theobroma cacao L.) Extract to Licking Time of Mice Induced by Formalin. *JOURNAL AMS*(2), 83-89%V 84. doi:10.19184/ams.v4i2.6328
- Sihombing, J. R., Dharma, A., Chaidir, Z., Almahdy, A., Fachrial, E., & Munaf, E. (2015). Phytochemical screening and antioxidant activities of 31 fruit peel extract from Sumatera, Indonesia. 7, 190-196.
- Singh, N., Datta, S., Dey, A., Chowdhury, A. R., & Abraham, J. (2015). Antimicrobial activity and cytotoxicity of Theobroma cacao extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 7, 287-294.
- Suprpti, & Ramlah, S. (2013). Pemanfaatan Kulit Buah Kakao Untuk Briket Arang. *Jurnal Biopropal Industri*, 4(2), 7.
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Experientia supplementum* (2012), 101, 133-164. doi:10.1007/978-3-7643-8340-4\_6
- Thi, L., Ha, V., Hang, P., Everaert, H., Rottiers, H., Lam, A., Dung, T., Hông, P., Phuoc, D., Toan, H., Dewettinck, K., & Messens, K. (2016). Characterization of leaf, flower, and pod morphology among vietnamese cocoa varieties (Theobroma cacao L.). *Pakistan Journal of Botany*, 48, 2375-2383.
- Trognitz, B., Scheldeman, X., Hansel-Hohl, K., Kuant, A., Grebe, H., & Hermann, M. (2011). Genetic population structure of cacao plantings within a young production area in Nicaragua. *PLoS One*, 6(1), e16056. doi:10.1371/journal.pone.0016056

- Umri, R., Maulana, I., & Ginting, B. (2019). Antioxidant and cytotoxic activity of ethyl asetat extracts of cocoa pod husk ( *Theobroma cacao* L). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 364, 012026. doi:10.1088/1755-1315/364/1/012026
- Wang, C. Z., Calway, T. D., Wen, X. D., Smith, J., Yu, C., Wang, Y., Mehendale, S. R., & Yuan, C. S. (2013). Hydrophobic flavonoids from *Scutellaria baicalensis* induce colorectal cancer cell apoptosis through a mitochondrial-mediated pathway. *Int J Oncol*, 42(3), 1018-1026. doi:10.3892/ijo.2013.1777
- WHO. (2011). Quality Control Methods for Herbal Materials. from WHO press



## Treatment pattern and direct medical costs of pediatric outpatients with acute respiratory infection at X hospital in Jambi

### Pola pengobatan dan biaya medis langsung pasien ISPA anak rawat jalan di Rumah Sakit X Jambi

Hendri Pranata\*, Rasmaladewi, Mukhlis Sanuddin

Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu, Jambi, Indonesia

\*Corresponding author: [hendri\\_pranata46@yahoo.co.id](mailto:hendri_pranata46@yahoo.co.id)

---

#### Abstract

**Introduction:** Acute respiratory infection is common among the general public. Such disease and its associated symptoms encourage higher consumption of medicine. Varied medications for ARI patients incur different costs of each patient, which eventually lead to higher healthcare costs.

**Objectives:** To identify the treatment patterns and direct medical costs among ARI pediatric patients at X Hospital in Jambi.

**Methods:** This research was an observational study with retrospective data collection. The samples were collected in 2018.

**Results:** The results showed that the most-frequently administered antibiotic for ARI pediatric patients was cefixime (29.17%), while the most-commonly used supportive therapy for ARI pediatric patients was the combination of antihistamines, antipyretics-analgesics, decongestant, and corticosteroid (16.67%). The total direct medical cost to ARI pediatric patients was IDR 191,097.

**Conclusion:** The mean direct medical cost for ARI therapy was IDR 191,097. More administered therapy resulted in higher medical costs.

**Keywords:** ARI, child, antibiotics, direct medical costs

#### Intisari

**Latar belakang:** Infeksi saluran pernafasan akut merupakan penyakit yang umum terjadi pada setiap kalangan masyarakat. Infeksi saluran pernafasan akut dan juga gejala yang di timbulkannya mengakibatkan tingginya penggunaan obat-obatan. Bervariasinya obat yang di konsumsi oleh pasien ISPA menyebabkan pembebanan biaya yang beragam dari setiap pasien yang pada akhirnya akan mempengaruhi beban biaya kesehatan yang akan ditanggung.

**Tujuan:** Untuk mengetahui pola pengobatan dan biaya medis langsung pasien ISPA anak rawat jalan di Rumah Sakit X Jambi.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pengumpulan data dilakukan secara retrospektif. Sampel diambil pada tahun 2018.

**Hasil:** Hasil penelitian didapatkan bahwa antibiotik yang paling banyak digunakan pada pasien anak penderita ISPA adalah sefiksime sebesar 29,17%. Sedangkan terapi suportif yang paling banyak digunakan untuk pasien anak ISPA adalah kombinasi golongan antihistamin, antipiretik analgetik, dekonjestan, kortikosteroid sebanyak 16,67%. Biaya total rata-rata medis langsung pada pasien ISPA anak rawat jalan yaitu sebesar Rp. 191.097.

**Kesimpulan:** Biaya medis langsung yang harus dikeluarkan untuk terapi pada penyakit ISPA yaitu rata-rata sebesar Rp. 191.097. Semakin banyak terapi yang di berikan maka semakin tinggi pula biaya yang akan dikeluarkan.

**Kata kunci:** ISPA, anak, antibiotik, biaya medis langsung

---

## 1. Latar Belakang

Menurut *World Health Organization* (WHO), Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) merupakan salah satu penyebab utama kesakitan dan kematian pada penyakit menular, diketahui sekitar empat juta orang meninggal diakibatkan oleh ISPA setiap tahun (WHO, 2019). Pada 10 penyakit terbanyak di Indonesia, ISPA selalu menduduki peringkat pertama. ISPA mendominasi kesakitan anak usia dibawah 5 tahun (balita) (Kemenkes, 2011). Di Indonesia karakteristik penduduk dengan ISPA yang tertinggi terjadi pada kelompok umur 1-4 tahun (25,8%) (Musdalipah *et al.*, 2018). Persentase untuk Kota Jambi sendiri mencapai 68,58% sehingga dikhawatirkan dampak yang besar pada anak di Kota Jambi (Dinkes, 2016).

Dampak dari penyakit ISPA jika tidak diobati dan jika di sertai dengan malnutrisi, maka penyakit tersebut akan menjadi berat dan akan menyebabkan terjadinya bronkitis, pneumonia, otitis media, syok dan sebagainya (Marni, 2014). ISPA serta dampak yang timbul mengakibatkan tingginya penggunaan antibiotik dan obat seperti obat flu, obat batuk dan multivitamin. ISPA umumnya diberikan resep antibiotik, ekspektoran, analgetik dan antihistamin (Sholihah *et al.*, 2017).

Bervariasinya terapi yang diberikan kepada pasien ISPA menimbulkan pembebanan biaya pengobatan yang beragam dari setiap pasien yang mempengaruhi total biaya pengobatan yang harus ditanggung (Almeman *et al.*, 2014). Penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa sebanyak 4.558 balita di Jakarta menderita ISPA pada tahun 2002 dengan total biaya yang harus dikeluarkan sebesar Rp.55.748.788,00, dan pada 2015 biaya medik langsung pasien ISPA anak di RS 'X' adalah Rp. 250.407 per pasien (Sholihah *et al.*, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui biaya medis langsung serta pola pengobatan pasien ISPA anak rawat jalan di Rumah Sakit X Jambi.

## 2. Metodologi penelitian

### 2.1. Deskripsi bahan dan teknik pengumpulan sampel

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pengambilan data secara retrospektif berdasarkan data resep, slip bpjs dan kwitansi pembayaran pasien pediatrik yang telah menjalani pengobatan rawat jalan pada periode 2018 di Instalasi Rawat Jalan Anak Rumah Sakit X Jambi. Sampel pada penelitian ini adalah pasien anak penderita ISPA pada

rawat jalan yang mendapatkan terapi pengobatan minimal 1 jenis pengobatan supportif dan atau 1 jenis antibiotik. Data disajikan dalam bentuk tabel.

## 2.2. Penjelasan mengenai deskripsi jalannya penelitian

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara menelusuri resep, slip bpjs dan kwitansi pasien di poli anak Rumah Sakit X Jambi dengan data periode 2018. Data kemudian diolah menggunakan MS. Excel. Data dikelompokan berdasarkan karakteristik pasien, terapi yang diberikan, dan biaya medis langsungnya. Analisis data yaitu biaya medis langsung dihitung biaya rata-rata yang harus dikeluarkan per pasien untuk diagnosa ISPA.

## 3. Hasil dan pembahasan

Karakteristik pasien diperlihatkan pada tabel 1. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, persentase pasien ISPA anak rawat jalan berjenis kelamin laki-laki sebesar 54,17% dan perempuan sebesar 45,83%. Hal ini di karenakan kegiatan anak laki-laki lebih banyak dibandingkan perempuan sehingga anak laki-laki lebih banyak peluang terpaparnya agent penyakit (Sugiarti *et al.*, 2015). Karakteristik pasien berdasarkan usia diperoleh hasil persentase pasien anak usia 0-5 tahun sebesar 70,83% dan usia >5-12 tahun sebesar 29,17%. Tingginya prevalensi tersebut dikarenakan ISPA pada usia tersebut biasanya merupakan kejadian infeksi pertama namun belum terbentuknya kekebalan tubuh yang optimal secara alami serta belum sempurnanya sistem imunitas (Fajarwati, 2015; Musdalipah *et al.*, 2018).

**Tabel 1.** Karakteristik pasien berdasarkan jenis kelamin, usia, dan diagnosa penyakit

No	Karakteristik	Bronkitis	Otitis media	Rhinitis	Sinusitis	Total	%
1	Jenis kelamin						
	Laki-laki	19	6	5	9	39	54,17
	Perempuan	17	9	1	6	33	45,83
	Total	36	15	6	15	72	100
2	Usia						
	0-5 tahun	30	7	2	12	51	70,83
	>5-12 tahun	6	8	4	3	21	29,17
	Total	36	15	6	15	72	100

Keterangan: Rentang usia berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia

Pola penggunaan antibiotik diperlihatkan pada tabel 2. Antibiotik yang paling banyak digunakan pada penelitian ini adalah sefiksim dengan penggunaan pada penyakit bronkitis dan sinusitis dengan total penggunaan sebesar 29,17%, sedangkan pada otitis media lebih

banyak menggunakan tetes telinga ofloksasin sebesar 6.94% dan pada rhinitis antibiotik yang digunakan adalah sefadroksil dengan total penggunaan pada semua penyakit sebesar 13,89%. Sefiksim lebih banyak digunakan pada bronkitis dan sinusitis dikarenakan sefiksim dianggap pilihan terapi yang tepat untuk mengatasi infeksi mikroorganisme yang serius. Penelitian yang dilakukan sebelumnya menunjukkan keberhasilan pengobatan sebesar 83,30% pada pasien sinusitis. Keberhasilan tersebut disebabkan karena sensitifitas sefiksim terhadap mikroorganisme penyebab sinusitis dan beberapa penyakit ISPA sehingga sefiksim lebih direkomendasikan sebagai terapi lini pertama untuk mengatasi infeksi sinusitis (Dreshaj *et al.*, 2011). Penyakit bronkitis tidak hanya digunakan antibiotik sefiksim tetapi juga menggunakan antibiotik kombinasi amoksisilin dan asam klavulanat. Kombinasi ini dapat mengurangi resistensi terhadap amoksisilin (Alburyhi *et al.*, 2013).

**Tabel 2.** Pola penggunaan antibiotik

No	Golongan	Nama obat	Diagnosa				N = 72	
			Bronkitis	Otitis Media	Rhinitis	Sinusitis	Jumlah	%
1	Sefalosporin	Sefadroksil	4		2	4	10	13,89
		Sefiksim	10			11	21	29,17
2	Kuinolon	Ofloksasin		5			5	6,94
3	Penisilin	Amoksisilin	5		1		6	8,33
		Amoksiklav	6				6	8,33
4	Makrolida Kombinasi	Azitromisin	2				2	2,78
		Amoksisilin + Ofloksasin		2			2	2,78
		Amoksisilin + Polimiksin + Neomisin		2			2	2,78
		Amoksiklav + Ofloksasin		2			2	2,78
		Polimiksin + Neomisin		1			1	1,39
		Sefadroksil + Ofloksasin		3			3	4,16
		Tidak menerima antibiotik	9		3		12	16,67
<b>Total</b>			36	15	6	15	72	100

Pada rhinitis diberikan terapi antibiotik sefadroksil untuk mengatasi bakteri yang menyerang. Antibiotik golongan sepalosporin memiliki aktivitas yang poten terhadap mikroorganisme Gram positif dan Gram negatif. Otitis media lebih banyak digunakan obat

tetes ofloksasin sebagai monoterapi. Ofloksasin tetes telinga diberikan pada penderita dengan sekret telinga. Antibiotik ini diketahui aman terhadap syaraf-syaraf telinga bila terjadi iritasi pada gendang telinga, yang berarti tidak bersifat ototoksik. Mekanisme kerja dari golongan kuinolon yaitu menghambat kerja DNA-gyrase sehingga sintesis DNA kuman terhambat (Sholihah *et al.*, 2017).

Tabel 2 juga menunjukkan bahwa tidak semua pasien diberikan terapi antibiotik. Terapi antibiotik digunakan hanya jika adanya keterlibatan atau penyakit disebabkan oleh bakteri, sedangkan jika penyakit disebabkan oleh virus tidak perlu diberikan antibiotik, namun diberikan terapi suportif untuk mengurangi gejala penyakit dan antivirus jika dibutuhkan. Pengenalan ada tidaknya indikasi pemberian antibiotik menjadi masalah yang besar saat ini. Penggunaan antibiotik seharusnya didasarkan diagnosis yang jelas atau disebabkan oleh bakteri, namun pemeriksaan diagnostik terbatas membuat penegakan diagnosis pasti bisa tertunda hingga beberapa hari. Banyak peneliti menemukan bahwa sebagian besar alasan dokter memberikan antibiotik adalah karena adanya kekhawatiran dalam mengenali infeksi bakterial sehingga antibiotik diberikan kepada semua pasien dengan gejala demam (Farida *et al.*, 2016).

Terapi suportif adalah terapi tambahan atau penunjang bukan antibiotik yang dapat menyembuhkan atau mengurangi gejala yang timbul. Penggunaan terapi ini disesuaikan dengan keadaan yang dialami pasien (tabel 3.). Penggunaan lebih banyak digunakan obat dengan kombinasi antihistamin, antipiretik analgetik, dekongestan, kortikosteroid sebanyak 16,67%. Penggunaan antihistamin umumnya digunakan jika adanya tanda alergi seperti gatal ataupun bersin, obat yang digunakan antihistamin golongan pertama yaitu CTM, golongan ini memberikan hasil yang baik dalam mengatasi gejala flu, namun tidak terbukti mencegah, ataupun mengobati serangan flu. Bronkodilator digunakan pada pasien bronkitis yang disertai dengan obstruksi pernafasan. Golongan ini mendilatasi bronkiolus dan bronkus sehingga aliran udara meningkat (Hapsari *et al.*, 2010).

**Tabel 3.** Pola penggunaan terapi supportif

Golongan	Jumlah	%
Antihistamin + Antipiretik-Analgetik + Mukolitik	2	2,78
Antihistamin + Antipiretik-Analgetik + Dekongestan + Kortikosteroid	12	16,67
Antihistamin + Antipiretik-Analgetik + Mukolitik	2	2,78
Antihistamin + Bronkodilator + Mukolitik	10	13,89

<b>Golongan</b>	<b>Jumlah</b>	<b>%</b>
Antihistamin + Bronkodilator + Dekongestan + Mukolitik	1	1,39
Antihistamin + Dekongestan + Kortikosteroid + Vitamin	5	6,94
Antihistamin + Dekongestan + Kortikosteroid	3	4,16
Antihistamin + Kortikosteroid	1	1,39
Antihistamin-Kortikosteroid + Antipiretik-Analgetik	3	4,16
Antihistamin + Kortikosteroid + Mukolitik + Vitamin	1	1,39
Antipiretik-Analgetik + Bronkodilator + Mukolitik	1	1,39
Antipiretik-Analgetik + Dekongestan	3	4,16
Antipiretik-Analgetik + Mukolitik	3	4,16
Antipiretik-Analgetik + Mukolitik + Vitamin	1	1,39
Antipiretik-Analgetik + Kortikosteroid + Mukolitik	2	2,78
Antipiretik-Analgetik + Vitamin	1	1,39
Bronkodilator	1	1,39
Bronkodilator + Mukolitik	2	2,78
Bronkodilator + Dekongestan + Kortikosteroid + Mukolitik + Vitamin	1	1,39
Bronkodilator + Kortikosteroid +Mukolitik + Vitamin	5	6,94
Dekongestan + Ekspektoran + Kortikosteroid	1	1,39
Kortikosteroid + Mukolitik	8	11,12
Kortikosteroid + Mukolitik + Vitamin	2	2,78
Mukolitik + Vitamin	1	1,39
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>100</b>

Biaya medis langsung merupakan biaya yang dikeluarkan oleh pasien yang berhubungan langsung dengan kesehatan pasien seperti biaya pendaftaran, jasa dokter dan obat-obatan (tabel 4). Hasil penelitian menunjukkan bahwa biaya langsung yang harus dikeluarkan oleh pasien ISPA rawat jalan yaitu sebesar Rp. 191.097. Biaya tertinggi yang harus dibayar oleh pasien adalah biaya pendaftaran dan jasa dokter (digabung).

**Tabel 4.** Biaya medis langsung

<b>Medis langsung</b>	<b>N = 72</b>	
	<b>Biaya total</b>	<b>Biaya per pasien</b>
Obat		
Antibiotik	Rp. 2.581.500	Rp. 35.854
Suportif	Rp. 2.537.500	Rp. 35.243
Jasa Dokter dan Pendaftaran	Rp. 8.640.000	Rp. 120.000
<b>Total</b>	<b>Rp. 13.759.000</b>	<b>Rp. 191.097</b>

Biaya jasa dokter adalah biaya yang dikeluarkan sebagai imbalan kepada dokter karena telah melakukan pemeriksaan dan konsultasi terhadap pasien ataupun keluarga pasien. Biaya pendaftaran dan jasa dokter yang harus dikeluarkan yaitu sebesar Rp. 120.000.

Biaya penggunaan obat yang harus dikeluarkan oleh pasien ISPA anak rawat jalan ada 2 jenis yaitu terapi suportif dan antibiotik. Biaya antibiotik yang harus dikeluarkan tiap pasien yaitu sebesar Rp. 35.854 sedangkan biaya terapi suportif tiap pasien yaitu sebesar Rp. 35.243.

Dari data tersebut menunjukkan bahwa terapi antibiotik lebih tinggi biayanya dibandingkan dengan biaya suportif. Hal ini disebabkan karena adanya penggunaan antibiotik kombinasi dan antibiotik dengan bentuk sediaan sirup (Musdalipah *et al.*, 2018). Antibiotik sirup umumnya lebih mahal dibandingkan dengan yang tablet/kapsul, dan pasien yang paling banyak adalah usia 0-5 tahun sehingga lebih banyak digunakan antibiotik sirup. Hal ini mempengaruhi biaya yang dikeluarkan oleh pasien.

#### **4. Kesimpulan**

Hasil penelitian didapatkan bahwa antibiotik yang paling banyak digunakan pada penelitian ini yaitu sefiksim sebanyak 29,17%. Terapi suportif yang paling banyak digunakan adalah kombinasi golongan antihistamin, antipiretik-analgetik, dekonjestan, kortikosteroid sebesar 16,67%. Biaya medis langsung yang harus dikeluarkan pada penelitian ini didapatkan dengan rata-rata yaitu sebesar Rp.191.097 per pasien.

#### **Ucapan terimakasih**

Terima kasih kepada Rumah Sakit 'X' dan STIKES Harapan Ibu Jambi yang telah mengizinkan dilaksanakannya penelitian ini serta membantu dalam kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

#### **Daftar pustaka**

- Alburyhi, M. M., Siaf, A. A., & Noman, M. A. (2013). Stability study of six brands of amoxicillin trihydrate and clavulanic acid oral suspension present in Yemen markets. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5, 293-296.
- Almeman, A., Ibrahim, M., & Rasool, S. (2014). Cost analysis of medications used in upper respiratory tract infections and prescribing patterns in University Sans Malaysia, Penang, Malaysia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13, 621. doi:10.4314/tjpr.v13i4.21
- Dinkes. (2016). *Profil Kesehatan Provinsi Jambi*. Jambi: Dinas Kesehatan Provinsi Jambi
- Dreshaj, S., Doda-Ejupi, T., Tolaj, I., Mustafa, A., Kabashi, S., Shala, N., Geca, N., Aliu, A., & Daka, A. (2011). Clinical role of Cefixime in community-acquired infections. *Prilozi / Makedonska akademija na naukite i umetnostite, Oddelenie za biološki i medicinski nauki = Contributions / Macedonian Academy of Sciences and Arts, Section of Biological and Medical Sciences*, 32, 143-155.
- Fajarwati, A. H. (2015). *Evaluasi penggunaan antibiotika pada penyakit Infeksi Saluran Pernafasan Akut kelompok pediatri di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Panti Rapih Yogyakarta*. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

- Farida, H., Herawati, H., Hapsari, M. M., Notoatmodjo, H., & Hardian, H. (2016). Penggunaan Antibiotik Secara Bijak Untuk Mengurangi Resistensi Antibiotik, Studi Intervensi di Bagian Kesehatan Anak RS Dr. Kariadi. *Sari Pediatri*, 10, 34. doi:10.14238/sp10.1.2008.34-41
- Hapsari, R. Y. D., Sunyoto, & Rahmawati, F. (2010). Gambaran Pengobatan Pada Penderita Ispa (Infeksi Saluran Pernafasan Akut) Di Puskesmas Trucuk 1 Klaten Tahun 2010. *CERATA Journal Of Pharmacy Science*, 11.
- Kemenkes. (2011). *Pedoman Pengendalian Infeksi Saluran Napas Akut*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Marni. (2014). *Asuhan Keperawatan pada Anak dengan Gangguan Pernapasan*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Musdalipah, M., Setiawan, M. A., & Santi, E. (2018). Analisis efektivitas biaya antibiotik sefotaxime dan gentamisin penderita pneumonia pada balita di RSUD Kabupaten Bombana Provinsi Sulawesi Tenggara.
- Sholihah, N., Susanti, R., & Untari, E. (2017). Gambaran pengobatan dan biaya medis langsung pasien ISPA anak di RS 'X' tahun 2015. *JURNAL MANAJEMEN DAN PELAYANAN FARMASI (Journal of Management and Pharmacy Practice)*, 7, 40. doi:10.22146/jmpf.368
- Sugiarti, T., Sidemen, A., & Wiratmo, W. (2015). Studi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Penyakit ISPA Usia Bawah Lima Tahun di Instalasi Rawat Jalan Puskesmas Sumpersari Periode 1 Januari-31 Maret 2014 (Study of Antibiotics Use on ARI Patients in Under Five Years Outpatient Clinic, Sumpersari Health. *Pustaka Kesehatan*(2), 262-266%V 263. Retrieved from <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/view/2583>
- WHO. (2019). *World health statistics 2019: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals*(pp. 120). Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/324835>