



UNIVERSITAS
ISLAM
INDONESIA

P-ISSN-1693-8666
E-ISSN-2657-1420



Jurnal Ilmiah Farmasi

Scientific Journal of Pharmacy

EDISI Special Issue 2022

HAL. 1 - 184

Now Available at :

 journal.uii.ac.id/jif

Jurusan Farmasi FMIPA UII
Jalan Kaliurang KM. 14,5
Yogyakarta 55584
Telp. (024) 896439 ext. 3047
email : jif@uui.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. Siti Zahliyatul Munawiroh

Dr. apt. Rochmy Istikharah

apt. Oktavia Indrati, M.Sc.

apt. Dian Medisa, MPH

apt. Yosi Febrianti, M.Sc.

apt. Sista Werdyani, M. Biotech.

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 Dewan Editor	iv
The risk of <i>Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor</i> (ACEI) and <i>Calcium Channel Blocker</i> (CCB) used on <i>Obstructive Sleep Apnea</i> (OSA) incidence in hypertension patients Fibe Yulinda Cesa, Martanty Aditya, Rehmadanta Sitepu, Dion Notario	1-10
Total phenolic and flavonoid contents of n-hexane fraction in binjai leaves (<i>Mangifera caesia</i> Jack. ex. Wall) Cahaya Rahayu Yuliani, Hafiz Ramadhan, Putri Indah Sayakti, Cast Torizellia	11-19
Isolation of endophytic fungi from benalu batu (<i>Begonia Medicinalis</i>) and their toxicity on <i>Artemia Salina</i> Syariful Anam, Armini Syamsidi, Musyahidah, Nurul Ambianti, Agustinus Widodo, Muhammad Sulaiman Zubair	20-30
Flavonoid compounds of tapak liman plant (<i>Elephantopus scaber</i>) as antihyperuricemia Neni Sri Gunarti, Himyatul Hidayah	31-36
Anti-hypercholesterolemic activity of herbal juice with shelf life of 50 and 100 days in male rats induced by PTU and high-fat diet Sari Meisyayati, Ade Arinia Rasyad, Frelis Setya Nanda, Ayu Lestari, Alex Ferianto, Rizki Wahyudi	37-43
The effect of drug information service using leaflet media and medication reminder chart on adherence and blood pressure of hypertensive patients in primary health care Yopi Rikmasari	44-53
Evaluation of pharmaceutical services, the level of satisfaction and waiting time at Betung City Primary Health Care, Banyuasin Regency Reza Agung Sriwijaya	54-59
Medication profile and potential drug interactions in diabetes mellitus with hypertension outpatient at RSUD dr. H. Andi Abdurrahman Noor Sinta Rachmawati, Fania Pratiwi, Ika Norcahyanti	60-67
Formulation and evaluation of pumpkin fruit (<i>Cucurbita maxima L.</i>) emulgel Agitya Resti Erwiyani, Sri Mustika Ayu, Winda Ayu Ningtyas, Rissa Laila Vifta	68-78
The phenolic compounds of ethanolic extract of date seed (<i>Phoenix dactylifera l.</i>) exert hepatoprotective activity on rat induced carragenan Warsinah, Esti Dyah Utami, Hanif Nasiatul Baroroh	79-86
Assessment of prescribing pattern based on WHO indicators at "X" Primary Health Care in Sleman Regency Kristy Tri Wardhani, Dian Medisa, Saepudin, Ifada	87-96

Antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves (<i>Manihot esculenta</i> Crantz) using CUPRAC method Putri Indah Sayakti, Norma Anisa, Hafiz Ramadhan	97-106
Optimization of cardamom fruit ethanol extract gel with combination of HPMC and Sodium Alginate as the gelling agent using Simplex Lattice Design Wati Eliana Putri, Metha Anung Anindhita	107-120
Sub chronic toxicity effect of combination of herbal juice on the function and histopathology feature of male Wistar rat liver Ade Arinia Rasyad, Aisah, Lidia, Sari Meisyayati	121-127
The study of drug interaction on pneumonia patients at RSUP Dr. M. Djamil Padang Lola Azyenela, Mimi Aria, Lana Aristya	128-135
The pattern of vancomycin, gentamycin, and meropenem prescriptions for the inpatients of a regional public hospital in Yogyakarta, Indonesia Mutiara Herawati, Mir-a Kemila, Putri Anggriani, Nur Mardhiyah, Siti Maulida	136-146
The profile of anxiety, stress, and depression among pharmacy students in Universitas Islam Indonesia Mutiara Herawati, Aldia Karinaningrum, Yosi Febrianti	147-158
Lotion deodorant formulation of ethanolic extract of red betel leaf (<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav) with stearic acid as base Lidia, Ensiwi Munarsih, Dini Aprilianti	159-168
Antioxidant activity, total flavonoid, and total tannin content of ethanol extract of avocado peel (<i>Persea americana</i> Mill.) Rini Isromarina, Doddy Rusli, Deva Ulan Sari	169-174
The immunomodulatory activity of ethanol extract of attarasa bark and fruit (<i>Litsea cubeba</i> (lour.) pers.) toward carbon clearance of mice (<i>Mus musculus</i>) Vivi Asfianti, Alfi Sapitri, Eva Diansari Marbun	175-184

PENGANTAR DEWAN EDITOR

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah Ta'ala yang telah menganugerahkan kesempatan dan kekuatan, sehingga Jurnal Ilmiah Farmasi (JIF) *Special Issue* Tahun 2022 dapat diterbitkan. *Special Issue* ini terbit sebagai hasil Kerjasama dengan panitia Seminar Nasional APTFI ke-III yang dilaksanakan pada tahun 2021. Pada edisi ini dimuat dua belas artikel pada kelompok Farmasi Sains dan delapan artikel dari kelompok klinis. Artikel yang disajikan pada kelompok Farmasi Klinis mengulas tentang topik efektivitas terapi pada pasien di rumah sakit maupun evaluasi pelayanan apoteker di fasilitas kesehatan. Sedangkan artikel pada kelompok Farmasi Sains diantaranya mengetengahkan topik pengujian farmakologi 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, Januari 2022
Dewan Editor

The risk of *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor (ACEI)* and *Calcium Channel Blocker (CCB)* used on *Obstructive Sleep Apnea (OSA)* incidence in hypertension patients

Risiko penggunaan antihipertensi *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor (ACEI)* dan *Calcium Channel Blocker (CCB)* terhadap kejadian *Obstructive Sleep Apnea (OSA)* pada pasien hipertensi

Fibe Yulinda Cesa^{1*}, Martanty Aditya¹, Rehmadata Sitepu¹, Dion Notario²

¹Prodi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang, Indonesia

²Prodi Farmasi, FK-IKM, Universitas Atmajaya, Jakarta, Indonesia

*Corresponding author: fibe.yulinda@machung.ac.id

Abstract

Background: The administration of angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) and calcium channel blocker (CCB) therapy is known to have a side effect of a dry cough that would trigger OSA. Further research is needed to compare the effect of these two drugs on the side effects of OSA, which could trigger high-risk patient conditions.

Objective: To determine the risk of using ACE and CCB on the incidence of OSA using a case-control study method at Dau Primary Health Center.

Methods: Demographic data were collected on 207 respondents aged 40-60 years by collecting Data Collection Sheets and Berlin questionnaires to determine the risk of OSA in respondents. Then, statistical analysis was carried out by determining the odds ratio (OR).

Results: The results showed that one of the factors BMI (obese BMI; OR=1.33; 95% CI=0.11-15.70) induces OSA with the highest OR value compared to other factors.

Conclusion: Obese patient has 1.33 times greater risk of OSA with ACEI and CCB therapy than non-obese. It is necessary to conduct further research with a larger sample size related to OSA's assessment associated with this therapy to improve patients' quality of life.

Keywords: Obstructive sleep apnea, ACE inhibitors, calcium channel blockers, hypertension

Intisari

Latar belakang: *Obstructive Sleep Apnea (OSA)* yang terjadi pada pasien hipertensi dapat disebabkan karena efek samping dari penggunaan antihipertensi *angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI)* dan *calcium channel blocker (CCB)*, namun analisis hubungan keduanya belum diketahui dengan pasti.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui risiko penggunaan ACE dan CCB terhadap kejadian OSA dengan metode *case control study* di Puskesmas Dau.

Metode: Pengambilan data demografi pada 207 responden usia 40-60 tahun dilakukan dengan mengumpulkan Lembar Pengumpul Data (LPD) dan kuesioner Berlin untuk mengetahui risiko OSA pada responden kemudian dilakukan analisis statistik dengan penentuan *odds ratio (OR)*.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasien yang menjalani pengobatan dengan antihipertensi ACEI dan obesitas memiliki risiko lebih besar mengalami OSA (OR=1,33; CI 95%=0,11-15,70) yaitu 1,33 kali dibandingkan pada pasien yang tidak obesitas.

Kesimpulan: Obesitas menjadi factor risiko terhadap kejadian OSA pada pasien hipertensi yang mendapatkan antihipertensi golongan ACEI dan CCB.

Kata kunci: *Obstructive sleep apnea*, ACE inhibitor, *calcium channel blocker*, hipertensi

1. Pendahuluan

Hipertensi merupakan suatu sindrom yang ditandai dengan terjadinya peningkatan tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan atau tekanan darah diastolic ≥ 90 mmHg. Penyakit hipertensi dapat menyebabkan komplikasi hingga kematian apabila tidak ada penanganan dan monitoring yang berfokus pada kejadian ini. Hipertensi menduduki peringkat ke 6 penyakit tidak menular dengan prevalensi sebesar 26,5% di Indonesia dan menduduki peringkat ke 12 di Jawa Timur dengan prevalensi sebesar 26,2%. Penyakit tersebut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor risiko antara lain jenis kelamin, usia, gaya hidup, serta status pekerjaan. Konsumsi tembakau dan alkohol, kelebihan berat badan, obesitas, dan obesitas perut juga dikaitkan sebagai faktor yang berhubungan dengan kejadian hipertensi (Singh *et al.*, 2017).

Menurut *Joint National Committee* (JNC) 8, ACE inhibitor (ACEI) merupakan salah satu terapi lini awal yang diperuntukkan bagi penderita hipertensi (James *et al.*, 2014). Obat golongan ini dilaporkan efektif dalam mengurangi morbiditas dan mortalitas pasien hipertensi yang disertai komorbid gagal jantung, penyakit ginjal, dan diabetes mellitus (Mahajan, 2014). Namun pada beberapa pasien, penggunaan ACEI dalam jangka panjang dilaporkan dapat menimbulkan efek samping diantaranya batuk kering akibat peningkatan bradikinin (Yilmaz, 2019). Batuk kering inilah yang menjadi perhatian utama, sebab dalam beberapa laporan kasus, efek samping yang dihasilkan oleh ACEI banyak dikaitkan dengan kejadian *obstructive sleep apnea* (OSA). OSA merupakan keadaan penghentian aliran udara selama 10 detik sehingga menyebabkan penurunan aliran udara paling sedikit 30-50% yang berdampak pada terjadinya penurunan kadar oksigen dalam darah (Amar *et al.*, 2018; Memon & Manganaro, 2021). Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya risiko gangguan tidur yang disebabkan oleh penggunaan ACE inhibitor dengan nilai OR (95% CI) sebesar 0,42 (van Dijk *et al.*, 2011).

Selain ACEI, salah satu golongan obat yang menjadi perhatian terkait dengan efek sampingnya jika dihubungkan dengan risiko terjadinya OSA adalah golongan *calcium channel blocker* (CCB). Suatu studi telah dilaporkan bahwa penggunaan antihipertensi CCB dapat meningkatkan risiko AHI (*apnea-hipopnea index*). Demikian pula dengan pemberian enalapril pada pasien hipertensi mampu meningkatkan risiko gangguan tidur sebesar $33,8 \pm 21$ (Cicolin *et al.*, 2006). Hal ini menandakan bahwa penggunaan antihipertensi golongan ACEI dan CCB menjadi faktor yang dapat memicu kejadian OSA pada pasien hipertensi. Gangguan tidur yang tidak segera dimonitoring akan berdampak pada masalah psikis seperti cemas hingga depresi. Depresi akan memicu terjadinya penyakit kronis lainnya seperti *stroke*, gangguan jantung, diabetes mellitus hingga kematian (Jehan

et al., 2017). Oleh karenanya, penting untuk dilakukan penelitian tentang kejadian OSA pada pasien hipertensi yang mendapatkan antihipertensi golongan ACEI dan CCB. Selain itu, belum banyak literatur ilmiah yang membahas mengenai penggunaan ACEI dan CCB dengan risiko terjadinya gangguan tidur OSA. Dalam penelitian ini, akan dijabarkan terkait dengan faktor risiko penggunaan ACE dan CCB dengan angka kejadian efek samping obat (ESO) pada pasien hipertensi yang tentunya dapat digunakan sebagai dasar ilmiah bagi para tenaga kesehatan dalam memberikan informasi dan monitoring efek samping obat.

2. Metode

2.1. Teknik pengumpulan sampel

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain *case control study* yang dilakukan secara retrospektif. Penelitian dilakukan dari bulan Agustus hingga Oktober 2018 di Puskesmas Dau, Malang dengan melibatkan 207 responden yang telah menyetujui form persetujuan. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Dinas Kesehatan Kabupaten Malang dengan Nomor: 72/3751/35.07.207/2018. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *non-probability sampling*. Dalam penelitian ini lokasi yang dipilih adalah Pusat Kesehatan Masyarakat (Puskesmas) dikarenakan Puskesmas menjadi rujukan fasilitas kesehatan tingkat pertama.

2.2. Populasi dan sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasien hipertensi yang terdaftar di Puskesmas Dau, yang tersebar pada empat wilayah. Adapun kriteria inklusi dalam penelitian ini antara lain: (1) pasien yang mengalami hipertensi dan diberikan terapi ACEI dan CCB minimal 1 tahun; (2) tidak memiliki kebiasaan tidur yang tidak terkontrol/sudah sering begadang/kebiasaan tidur malam sebelumnya; (3) bersedia menjadi responden dengan menandatangani lembar *informed consent*. Sementara untuk kriteria eksklusi yaitu: (1) responden dalam masa terapi obat-obatan lain yang terbukti menyebabkan gangguan tidur; (2) penggunaan senyawa psikotropik jangka panjang; (3) merokok; serta (4) memiliki pola tidur yang tidak terkontrol.

2.3. Variabel penelitian

Subyek dalam penelitian ini dibagi menjadi kelompok kasus dan kelompok kontrol (non-kasus). Pada kelompok kasus, data yang diambil adalah pasien yang diberikan terapi ACE inhibitor dan mengalami gangguan tidur (OSA), sedangkan kelompok kontrol adalah pasien hipertensi yang telah mengonsumsi ACE inhibitor namun tidak mengalami gangguan tidur (non-OSA). Dalam *case control study*, adanya *confounding variable* (variabel perancu) perlu dipertimbangkan karena dapat

mempengaruhi hasil. Oleh karena itu, peneliti akan mengidentifikasi variabel-variabel yang dapat berkontribusi terhadap kejadian OSA diantaranya usia, jenis kelamin, status hipertensi, status pekerjaan, indeks massa tubuh (IMT) serta riwayat konsumsi kopi.

2.2. Kuesioner Berlin

Kuesioner Berlin ditujukan untuk mengukur adanya risiko kejadian OSA pada seseorang. Kuesioner ini telah diterjemahkan dari Bahasa Inggris ke dalam Bahasa Indonesia oleh penerjemah yang tersertifikasi. Sebelum dilakukan penyebaran kuesioner, peneliti terlebih dahulu melakukan validitas dan reliabilitas pada 30 responden dan didapatkan *chronbach alpha* sebesar 0,82. Nilai tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu dan memenuhi validitas dan reliabilitas kuesioner (Astridivia & Kuntarti, 2017; Thurtell *et al.*, 2011). Adapun kuesioner Berlin memiliki tiga kategori penilaian antara lain untuk mengkonfirmasi ada atau tidaknya seseorang tersebut mendengkur dan jika ada, kategori ini ingin menunjukkan intensitas dan frekuensi mendengkur pada responden. Kategori ini memiliki 5 butir pertanyaan yang mana penilaiannya diberikan nilai positif apabila jumlah skor total dalam kategori ini bernilai 2 atau lebih. Pada kategori kedua, yaitu kelelahan, dievaluasi dari adanya 3 pertanyaan (penilaian sama dengan kategori pertama). Khusus untuk kategori ketiga yaitu untuk mengonfirmasi bahwa seseorang tersebut hipertensi atau tidak. Karena dalam penelitian ini yang dilibatkan adalah semua pasien hipertensi rawat jalan, maka pada poin ini tidak dilakukan penilaian (dieksklusi dari pertanyaan). Oleh karena itu, untuk kesesuaian dengan penelitian ini, peneliti hanya melakukan evaluasi risiko OSA pada dua kategori kuesioner yaitu positif dan atau negatif pada kategori mendengkur dan kelelahan.

2.4. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan analisis univariat, bivariat dan multivariat. Analisis univariat ditujukan untuk mengetahui sebaran data demografik responden dalam penelitian ini yang dijabarkan dengan metode deskriptif. Analisis bivariat ditujukan untuk mengetahui hubungan antar dua variabel dengan tabel 2x2 untuk setiap kasus dan kontrol yang diuji menggunakan *Fisher's exact Test* dan dilanjutkan dengan analisis regresi logistik yang merupakan analisis multivariat dalam penelitian. Data yang didapatkan adalah dalam bentuk *odds ratio* (OR) dan CI 95%. Dalam penelitian ini, hanya akan dijabarkan khususnya untuk analisis multivariat. Semua pengolahan data secara statistik dilakukan dengan menggunakan *software R x64 4.1.1*.

3. Hasil dan pembahasan

Total responden yang terlibat dalam penelitian ini sebanyak 207 responden. Ada 30,9% (64 responden) dikategorikan mengalami OSA (kelompok kasus) dan sebanyak 69,1% (143 responden)

dikategorikan tidak mengalami OSA (non-kasus). Gambaran karakteristik responden penelitian disajikan dalam Tabel 1. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa sebagian besar jenis kelamin responden pada kelompok kasus (22%) adalah perempuan sedangkan pada kelompok non-kasus didominasi oleh jenis kelamin laki-laki (52%). Sementara itu, untuk nilai IMT pada kelompok kasus (20%) dan kelompok non mayoritas memiliki berat badan normal.

Tabel 1. Karakteristik responden

Karakteristik	OSA (n=64)	Non-OSA (n=143)
Jenis kelamin		
Laki-laki	18 (9%)	108 (52%)
Perempuan	46 (22%)	35 (17%)
Indeks Massa Tubuh (IMT)		
IMT Normal	42 (20%)	82 (40%)
IMT Berlebih	17(8%)	38 (18%)
IMT Obesitas	4 (2%)	7 (3%)
Usia (tahun)		
40-45	10 (5%)	22 (11%)
46-50	10 (5%)	12 (6%)
51-55	16 (5%)	52 (52%)
56-60	28 (5%)	73 (35%)
Status pekerjaan		
Bekerja	18 (9%)	36 (17%)
Tidak bekerja	46 (22%)	107(52%)
Konsumsi kopi		
Minum kopi	54 (26%)	138 (67%)
Tidak minum kopi	7 (3%)	6 (3%)
Kondisi hipertensi		
Hipertensi tingkat I	21 (10%)	38 (18%)
Hipertensi tingkat krisis	43 (21%)	105 (51%)

Penelitian terdahulu menemukan bukti bahwa seseorang yang menderita OSA seringkali mengalami hipertensi. Dengan kata lain, OSA dapat menjadi salah satu faktor risiko bagi seseorang untuk terdiagnosis hipertensi. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Konecny, Kara dan Somers (2014) yang menyebutkan bahwa OSA dikaitkan dengan pasien hipertensi dan kondisi ini seringkali terjadi bersamaan. Bukti terbaru menunjukkan bahwa OSA merupakan kontributor sekunder yang dapat meningkatkan tekanan darah pada pasien hipertensi (Konecny *et al.*, 2014). Begitu pula pada penelitian meta-analisis yang dilakukan oleh Hou, *et al* (2018) menunjukkan hasil bahwa dari enam studi menunjukkan hubungan yang signifikan antara OSA dan hipertensi resisten (*pooled* OR = 2,842, 95% CI = 1,703-3,980, $p < 0,05$). Telah disebutkan bahwa temuan pada penelitian tersebut mengimplementasikan bahwa OSA terkait dengan peningkatan risiko hipertensi. Disebutkan pula bahwa OSA ringan, sedang dan berat berhubungan dengan hipertensi (Hou *et al.*, 2018). Dari banyaknya literatur terkait OSA dan hipertensi, menurut pengetahuan peneliti, masih sedikit yang membahas lebih lanjut terkait efek samping obat ACEI dan CCB yang dapat

menyebabkan OSA. Akan tetapi, menurut penelitian efek samping obat yang telah dievaluasi sebelumnya, batuk kering yang ditimbulkan pada golongan ACE dan CCB sangat berpotensi menyebabkan penyakit gangguan tidur, salah satunya adalah OSA (Yılmaz, 2019). Apabila terbukti bahwa efek samping OSA karena penggunaan terapi kedua golongan tersebut memang berpengaruh pada pasien hipertensi, harus segera ada tindak lanjut bagi para praktisi kesehatan untuk evaluasi efek samping obat tersebut. Oleh karena itu, dalam penelitian ini hanya dikhususkan pada responden hipertensi yang tidak memiliki gangguan tidur (OSA) sebelum konsumsi ACEI dan CCB. Rata-rata penggunaan obat ACEI yang digunakan responden dalam penelitian ini adalah kaptopril sedangkan untuk CCB yang digunakan adalah Nifedipin (non-dihidropiridin) dan amlodipin (dihidropiridin).

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan hasil yang tidak signifikan secara statistik jika dilihat dari *p-value* ($>0,05$). Oleh karena itu, hasil penelitian didasarkan pada perolehan nilai OR yang tertinggi beserta dengan CI 95% yang tertera pada Tabel 2. Beberapa variabel penelitian jika diurutkan dari peringkat OR tertinggi berturut-turut antara lain indeks massa tubuh (IMT), usia, kondisi hipertensi, status pekerjaan, jenis kelamin, dan di peringkat terakhir adalah riwayat konsumsi kopi. Adapun peringkat ini terkait dengan tingkat OR yang telah disesuaikan dari urutan *probability* yang dilihat dari nilai OR kelompok kasus dan kontrol. Tabel 2 menunjukkan hubungan penggunaan ACEI dan CCB dengan kejadian OSA.

Tabel 2. Hubungan penggunaan ACEI dan CCB terhadap kejadian OSA

Variabel perancu	Terapi hipertensi	OSA	Non-OSA	Total	OR (CI 95%)	<i>p</i>
<i>Jenis kelamin</i>						
Perempuan	ACEI	21	46	67	1,13 (0,56-2,26)	0,863
	CCB	25	62	87		
	Total	46	108	154		
Laki-laki	ACEI	5	16	21	0,45 (0,13-1,56)	0,331
	CCB	13	19	32		
	Total	18	35	53		
<i>Indeks Massa Tubuh (IMT)</i>						
IMT normal	ACEI	18	32	50	1,17 (0,55-2,49)	0,827
	CCB	24	50	74		
	Total	42	82	124		
IMT berlebih	ACEI	6	22	28	0,39 (0,12-1,29)	0,209
	CCB	11	16	27		
	Total	17	38	55		
IMT obesitas	ACEI	2	3	5	1,33 (0,11-15,70)	1,000
	CCB	2	4	6		
	Total	4	7	11		
<i>Usia</i>						
40-45 tahun	ACEI	3	7	10	0,91 (0,18-4,65)	1,000
	CCB	7	15	22		
	Total	10	22	32		

Variabel perancu	Terapi hipertensi	OSA	Non-OSA	Total	OR (CI 95%)	p
46-50 tahun	ACEI	7	8	15	1,16 (0,19-7,11)	1,000
	CCB	3	4	7		
	Total	10	12	22		
51-55 tahun	ACEI	3	17	20	0,25 (0,06-1,06)	0,101
	CCB	13	19	32		
	Total	16	36	52		
56-60 tahun	ACEI	13	30	43	1,24 (0,51-2,98)	0,795
	CCB	15	43	58		
	Total	28	73	101		
<i>Status pekerjaan</i>						
Bekerja	ACEI	5	17	22	0,43 (0,12-1,45)	0,281
	CCB	13	19	32		
	Total	18	36	54		
Tidak bekerja	ACEI	21	45	66	1,15 (0,58-2,32)	0,815
	CCB	25	62	87		
	Total	46	107	153		
<i>Konsumsi kopi</i>						
Minum kopi	ACEI	21	56	77	0,84 (0,42-1,67)	0,632
	CCB	36	82	118		
	Total	54	138	195		
<i>Kondisi hipertensi</i>						
Hipertensi tingkat I	ACEI	11	18	29	1,22 (0,42-3,55)	0,923
	CCB	10	20	30		
	Total	21	38	59		
Hipertensi tingkat krisis	ACEI	15	44	59	0,74 (0,35-1,55)	0,544
	CCB	28	61	89		
	Total	43	105	148		

Pada variabel indeks massa tubuh (IMT), OR tertinggi ada pada kategori IMT obesitas dengan OR sebesar 1,33 (CI 95% = 0,11-15,70). Hal ini mengindikasikan bahwa seseorang yang diberikan terapi ACEI dan CCB dalam kondisi obesitas berisiko OSA 1,33 kali daripada yang tidak diberikan terapi kedua golongan obat tersebut. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa data epidemiologis mendukung hubungan antara obesitas dan hipertensi serta antara OSA dan hipertensi (Wolk *et al.*, 2003). Adanya hubungan ini diduga dengan adanya perbedaan varian genetik pada seseorang dengan OSA (Romero-Corral *et al.*, 2010). Studi sebelumnya menyebutkan bahwa polimorfisme (Arg/Arg dan Gln/Arg apabila dibandingkan dengan Gln/Gln) dari reseptor leptin, terlibat dalam homeostasis *uptake* energi dan dalam pengaturan berat badan. Penelitian ini menunjukkan bahwa secara signifikan, OSA dan obesitas memiliki korelasi yang dan mungkin saling terkait (Patel *et al.*, 2008). Dengan adanya pernyataan tersebut, semakin menunjukkan bahwa pasien dengan kondisi obesitas perlu monitoring lebih intens apabila terapi yang diberikan adalah ACE dan CCB karena mungkin dapat menyebabkan polimorfisme terkait

dengan kondisi ini. Dalam hal ini, perlu penelitian lebih lanjut terkait hubungan ACE dan CCB dengan mekanismenya sebagai faktor risiko terjadinya OSA secara genetik.

Variabel usia (56-60 tahun) menunjukkan OR sebesar 1,24 kali berisiko OSA (CI 95% = 0,51-2,98). Studi ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa prevalensi OSA meningkat dengan bertambahnya usia pada kedua jenis kelamin, dengan OR 2,2 untuk setiap peningkatan 10 tahun (Durán *et al.*, 2001). Semakin bertambah usia, maka semakin meningkat pula kejadian OSA. Penelitian ini menunjukkan bahwa pada rentang usia 56-60 tahun berisiko lebih tinggi dibandingkan dengan kategori lainnya. Dengan adanya bukti ilmiah ini, dapat menjadi dasar bahwa prevalensi hipertensi semakin meningkat dengan meningkatnya usia begitu juga dengan OSA. Hal ini merujuk pada kesimpulan peneliti bahwa kedua penyakit tersebut akan saling mempengaruhi karena berkaitan dengan penyakit degeneratif. Jika pemberian untuk ACEI dan CCB dirasa akan memperparah kondisi, maka disarankan untuk lebih memperhatikan pemberian dosis atau melakukan pertimbangan terapi ke golongan lain seperti *angiotensin receptor blocker* (ARB).

Pada penelitian ini, seluruh responden merupakan pasien hipertensi dan didapati bahwa responden dengan hipertensi tingkat I (tekanan darah 140-179/90-100) memiliki kemungkinan berisiko OSA dengan OR sebesar 1,22 (0,42-3,55). Beberapa penelitian telah menjelaskan bahwa OSA memiliki hubungan dengan adanya kejadian hipertensi. Pada kasus penelitian ini, kondisi terapi yang awalnya memang memiliki tujuan untuk menurunkan kejadian hipertensi dengan terapi lini awal, semakin memunculkan kemungkinan bahwa pasien yang diberikan terapi ACEI dan CCB harus mendapatkan monitoring di awal diagnosis hipertensi diberikan. Hal ini sebagai langkah preventif untuk meningkatkan efektivitas terapi.

Adanya status pekerjaan sebagai variabel perancu, ditemukan dalam penelitian ini bahwa kategori tidak bekerja memiliki kemungkinan berisiko OSA sebesar 1,15 kali jika dibandingkan dengan yang bekerja (CI 95%=0,58-2,32). Pekerjaan seringkali dikaitkan dengan aktivitas dan pergerakan. Dalam hal ini, peneliti menduga bahwa hasil yang didapatkan mungkin disebabkan karena adanya faktor psikologi yang berbeda. Dari data penelitian, rata-rata jenis kelamin adalah wanita. Pada penelitian ini untuk variabel jenis kelamin, dalam penelitian ini ditemukan bahwa perempuan berisiko 1,13 kali (CI 95%=0,56-2,26) dibandingkan dengan laki-laki. Apabila kedua faktor ini saling dihubungkan, maka wanita yang tidak bekerja memiliki risiko yang lebih tinggi daripada laki-laki. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kondisi OSA dapat mempengaruhi kejadian depresi (Jehan *et al.*, 2017). Kondisi psikologis yang berbeda antara seseorang yang bekerja

(beraktivitas) dan tidak juga bisa jadi menjadi penyebab tingginya risiko OSA pada responden yang diberikan terapi ACEI dan CCB.

Dalam penelitian ini, ditemukan bahwa responden yang memiliki kebiasaan meminum kopi dan menjalani terapi ACE dan CCB berisiko OSA lebih tinggi 0,84 kali jika dibandingkan dengan yang tidak minum kopi. Namun pada penelitian ini hanya data responden yang memiliki kebiasaan minum kopi yang dilibatkan dalam analisis multivariat, dikarenakan pada beberapa kelompok yang digolongkan dalam tabel 2x2 bernilai *null* dan membutuhkan konfirmasi lebih lanjut. Hal ini juga melandasi adanya keterbatasan penelitian terkait dengan variabel konsumsi kopi yang tidak dapat menjelaskan hubungan antara risiko OSA pada pemberian terapi ACEI dan CCB. Dengan adanya kondisi ini, dapat menjadi pemicu untuk saran penelitian selanjutnya terkait kondisi tersebut. Selain itu, bahasa menjadi salah satu kendala dalam pengambilan data penelitian dikarenakan beberapa responden tidak dapat berbahasa Indonesia sehingga peneliti memberikan pendampingan saat pengisian kuesioner.

4. Kesimpulan

Dari seluruh variabel yang diteliti, faktor risiko paling tinggi ditemukan bahwa indeks massa tubuh memiliki risiko lebih besar 1,33 kali berisiko OSA dengan terapi ACEI dan CCB dibanding dengan yang tidak obesitas. Perlu dilakukan evaluasi dan penelitian serupa lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar terkait dengan penilaian risiko OSA yang dihubungkan dengan terapi ACEI dan CCB. Dari hasil awal penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pasien obesitas yang mendapat terapi ACEI atau CCB perlu mendapat perhatian khusus karena lebih berisiko OSA. Dengan demikian, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bukti ilmiah monitoring pada pasien hipertensi jika diberikan kedua golongan obat ini.

Ucapan terimakasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada bidan desa yang bertugas di Puskesmas Dau, Dinas Kesehatan Kabupaten Malang dan Badan Kesehatan, serta Badan Kesatuan Bangsa dan Politik Kabupaten Malang yang telah memberikan ijin dan dukungan dalam pengumpulan data penelitian ini.

Daftar Pustaka

Amar, J. B., Mansour, A. B., Zaibi, H., Safta, B. B., Dhahri, B., & Aouina, H. (2018). Impact of Smoking on the Severity of Obstructive Sleep Apnea Hypopnea Syndrome *La Tunisie Medicale*, 96, 477–482.

- Astridivia, M., & Kuntarti, K. (2017). Obstructive Sleep Apnea and blood pressure on hypertensive patient in community health center in Depok Indonesia. *International Journal of Health and Life-Sciences* 3(2), 106-117. doi:https://dx.doi.org/10.20319/lijhls.2017.32.106117
- Cicolin, A., Mangiardi, L., Mutani, R., & Bucca, C. (2006). Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors and Obstructive Sleep Apnea. *Mayo Clin Proc*, 81(1), 53-55. doi:10.4065/81.1.53
- Durán, J., Esnaola, S., Rubio, R., & Iztueta, A. (2001). Obstructive Sleep Apnea-hypopnea and Related Clinical Features in A Population-based Sample of Subjects Aged 30 to 70 yr. *Am J Respir Crit Care Med*, 163(3 Pt 1), 685-689. doi:10.1164/ajrccm.163.3.2005065
- Hou, H., Zhao, Y., Yu, W., Dong, H., Xue, X., Ding, J., Xing, W., & Wang, W. (2018). Association of Obstructive Sleep Apnea with Hypertension: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Glob Health*, 8(1), 010405. doi:10.7189/jogh.08.010405
- James, P. A., Oparil, S., Carter, B. L., Cushman, W. C., Dennison-Himmelfarb, C., Handler, J., Lackland, D. T., LeFevre, M. L., MacKenzie, T. D., Ogedegbe, O., Smith, S. C., Jr., Svetkey, L. P., Taler, S. J., Townsend, R. R., Wright, J. T., Jr., Narva, A. S., & Ortiz, E. (2014). 2014 Evidence-based Guideline for The Management of High Blood Pressure in Adults: Report from the Panel Members Appointed to The Eighth Joint National Committee (JNC 8). *Jama*, 311(5), 507-520. doi:10.1001/jama.2013.284427
- Jehan, S., Auguste, E., SR, P. P., J, B. K., Myers, A., Zizi, F., Rajanna, M. G., G, J., & McFarlane, S. I. (2017). Depression, Obstructive Sleep Apnea and Psychosocial Health *Sleep Medicine and Disorders : International Journal*, 1(3), 12.
- Konecny, T., Kara, T., & Somers, V. K. (2014). Obstructive Sleep Apnea and Hypertension: An Update. *Hypertension*, 63(2), 203-209. doi:10.1161/hypertensionaha.113.00613
- Mahajan, R. (2014). Joint National Committee 8 Report: How It Differ from JNC 7. *Int J Appl Basic Med Res*, 4(2), 61-62. doi:10.4103/2229-516x.136773
- Memon, J., & Manganaro, S. N. (2021). Obstructive Sleep-disordered Breathing. In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Patel, S. R., Larkin, E. K., & Redline, S. (2008). Shared Genetic Basis for Obstructive Sleep Apnea and Adiposity Measures. *Int J Obes (Lond)*, 32(5), 795-800. doi:10.1038/sj.ijo.0803803
- Romero-Corral, A., Caples, S. M., Lopez-Jimenez, F., & Somers, V. K. (2010). Interactions between Obesity and Obstructive Sleep Apnea: Implications for Treatment. *Chest*, 137(3), 711-719. doi:10.1378/chest.09-0360
- Singh, S., Shankar, R., & Singh, G. P. (2017). Prevalence and Associated Risk Factors of Hypertension: A Cross-Sectional Study in Urban Varanasi. *Int J Hypertens*, 2017, 5491838. doi:10.1155/2017/5491838
- Thurtell, M. J., Bruce, B. B., Rye, D. B., Newman, N. J., & Biousse, V. (2011). The Berlin Questionnaire Screens for Obstructive Sleep Apnea in Idiopathic Intracranial Hypertension. *J Neuroophthalmol*, 31(4), 316-319. doi:10.1097/WNO.0b013e31821a4d54
- van Dijk, J. W., Manders, R. J., Hartgens, F., Stehouwer, C. D., Praet, S. F., & van Loon, L. J. (2011). Postprandial Hyperglycemia is Highly Prevalent throughout the Day in Type 2 Diabetes Patients. *Diabetes Res Clin Pract*, 93(1), 31-37. doi:10.1016/j.diabres.2011.03.021
- Wolk, R., Shamsuzzaman, A. S., & Somers, V. K. (2003). Obesity, Sleep Apnea, and Hypertension. *Hypertension*, 42(6), 1067-1074. doi:10.1161/01.Hyp.0000101686.98973.A3
- Yilmaz, İ. (2019). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors Induce Cough. *Turk Thorac J*, 20(1), 36-42. doi:10.5152/TurkThoracJ.2018.18014

Total phenolic and flavonoid contents of n-hexane fraction in binjai leaves (*Mangifera caesia* Jack. ex. Wall)

Kadar total fenolik dan flavonoid fraksi n-heksan daun binjai (*Mangifera caesia* Jack. ex. Wall)

Cahaya Rahayu Yuliani¹, Hafiz Ramadhan^{1*}, Putri Indah Sayakti¹, Cast Torizellia¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari, Banjarbaru, Indonesia

* Corresponding author: hafizramadhan14@gmail.com

Abstract

Background: Binjai leaves (*Mangifera caesia* Jack. ex. Wall) or *M. caesia* contain phenolic and flavonoid compounds important in medicinal plants development. The solvent difference and fractionation will give various active substance concentrations.

Objective: To evaluate the phenolic and flavonoid content qualitatively and quantitatively from the n-hexane fraction of binjai leaves methanol extract.

Methods: The soxhletation method with methanol was used to extract binjai leaves followed by fractionation. Thin Layer Chromatography (TLC) followed by spraying reagents were used to test phenols and flavonoids compounds. Folin-Ciocalteu reagents were used to analyzed total phenolics, while AlCl₃ reagents were used to quantify the total flavonoid content.

Result: This study gave positive results on the qualitative test of phenolics and flavonoids. Meanwhile, the fraction assay results showed total phenolic levels of 45.19 µgGAE/mg and total flavonoid levels of 165.06 µgQE/mg.

Conclusion: The n-hexane fraction of *M. caesia* leaves methanol extracts contains phenols and flavonoid content so that it has the potential as a medicinal plant.

Keywords: Binjai leaves, methanol extracts, n-hexane fraction, phenol, flavonoid.

Intisari

Latar belakang: Daun binjai (*Mangifera caesia* Jack. ex. Wall) memiliki senyawa fenolik dan flavonoid yang penting dalam pengembangan tanaman obat. Perbedaan pelarut dan fraksinasi akan memberikan kadar senyawa aktif yang berbeda.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif dan kuantitatif senyawa fenolik dan flavonoid dari fraksi n-heksan ekstrak metanol daun binjai.

Metode: Metode soxhletasi dengan pelarut metanol digunakan untuk mengekstraksi daun binjai yang dilanjutkan dengan fraksinasi. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dilanjutkan dengan reagen semprot digunakan untuk menguji senyawa fenolik dan flavonoid. Reagen *Folin-Ciocalteu* digunakan untuk menetapkan kadar total fenolik, sedangkan pereaksi AlCl₃ untuk menetapkan kadar total flavonoid.

Hasil: Penelitian ini memberikan hasil positif pada uji kualitatif fenolik dan flavonoid, sedangkan hasil penetapan kadar fraksi memberikan hasil total fenolik sebesar 45,19 µgGAE/mg dan kadar total flavonoid 165,06 µgQE/mg.

Kesimpulan: Fraksi n-heksana ekstrak metanol daun *M. caesia* memiliki kandungan fenolik dan flavonoid sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat,

Kata Kunci: Daun binjai, ekstrak metanol, fraksi n-heksan, fenolik, flavonoid.

1. Pendahuluan

Senyawa fenolik adalah kelompok produk alami yang terdapat dalam buah-buahan, sayuran, dan minuman. Golongan senyawa tersebut disintesis oleh tanaman dan menunjukkan banyak efek penting seperti perlindungan terhadap patogen dan memainkan peran utama sebagai antioksidan dan antikarsinogenik potensial (Cefali *et al.*, 2019). Genus *Mangifera* merupakan

salah satu genus yang pada penelitian sebelumnya terbukti mempunyai kandungan senyawa fenolik dan flavonoid (Salahuddin *et al.*, 2016).

Salah satu anggota genus *Mangifera* yaitu daun binjai (*M. caesia* Jack. Ex. Wall) terbukti memiliki senyawa fenolik dan flavonoid, sehingga memiliki potensi sebagai tanaman obat (Adham *et al.*, 2019; Ismail *et al.*, 2019). Ekstrak metanol daun binjai dilaporkan memiliki kadar total flavonoid 738 µgQE/mg dan total fenolik 559 µgGAE/mg ekstrak (Ramadhan, Hipmi, *et al.*, 2020). Hasil ini lebih tinggi dibandingkan bagian buahnya yaitu 0,019 µgTAE/mg fraksi (Paulinus *et al.*, 2015). Selain itu, metode fraksinasi juga akan memberikan hasil yang berbeda dengan total fenolik akan lebih tinggi pada fraksi air, sedangkan total flavonoid lebih tinggi pada fraksi etil asetat (Ramadhan, Sayakti, *et al.*, 2020).

Pada penelitian yang lain menunjukkan bahwa penggunaan pelarut n-heksan meningkatkan perolehan flavonoid dibandingkan dengan pelarut etanol baik dengan metode maserasi maupun soxhletasi (Rosita *et al.*, 2017). Dengan demikian, penelitian ini berupaya untuk menganalisis kualitatif dan kuantitatif kandungan fenolik dan flavonoid hasil fraksinasi dengan n-heksan dari ekstrak metanol daun *M. caesia* yang diuji.

2. Metode

2.1 Alat

Peralatan pada penelitian ini yaitu seperangkat soxhlet (*Pyrex*®) beserta alat gelas lainnya, selain itu juga corong pisah (*Pyrex*®), neraca analitik (*Fujitsu*®), *rotary evaporator* (*IKFR 10*®), penangas air (*Memmert*®), mikropipet (*Dragon Lab*®), *Vortex* (*Bionex*®), dan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis (*PG Instruments-T60*®).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu daun binjai, AlCl₃ (*Merck*®, Germany), asam asetat (*Merck*®, Germany), asam galat (*Sigma aldrich*®, USA), HCl (*Merck*®, Germany), H₂SO₄ (*Merck*®, Germany), FeCl₃ (*Merck*®, Germany), etil asetat (*Bratachem*®, Indonesia), kuersetin (*Sigma aldrich*®, USA), metanol (*Merck*®, Germany), metanol teknis (*Bratachem*®, Indonesia), n-heksana (*Bratachem*®, Indonesia), NaOH (*Merck*®, Germany), Na₂CO₃ (*Merck*®, Germany), reagen *Folin-ciocalteu* (*Merck*®, Germany), akuades (*Onemed*®, Indonesia), Pb (CH₃COOH)₂ (*Merck*®, Germany), plat silika gel GF₂₅₄ (*Merck*®, Germany).

2.3 Metode

2.3.1. Pengambilan sampel daun binjai

Spesimen daun binjai dikumpulkan pada November 2019 dari Kelurahan Guntung Manggis, Banjarbaru, Kalimantan Selatan dan dideterminasi oleh Laboratorium Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lambung Mangkurat sebagai

Mangifera caesia Jack. Ex. Wall. Sampel daun binjai yang diambil merupakan daun binjai yang matang atau daun keempat dari pucuk sampai daun kelima dari pangkal (Dwidhanti *et al.*, 2018).

2.3.2. *Pengolahan simplisia daun binjai*

Sampel daun *M. caesia* yang telah dikumpulkan, disortasi basah, dicuci, dan selanjutnya daun dipotong hingga kecil, kemudian dikeringkan di dalam ruangan yang bebas dari sinar matahari langsung. Setelah diperoleh simplisia kering, dilakukan penyerbukan, kemudian diayak hingga halus dengan pengayakan *mesh* 40 (Khairiah *et al.*, 2018).

2.3.3. *Pembuatan ekstrak metanol daun binjai*

Ekstraksi daun *M. caesia* dengan metanol menggunakan soxhlet dengan perbandingan 1:5 (simplisia:pelarut) pada suhu pemanasan 60°C. Ekstrak kental diperoleh dengan *rotary evaporator* 50°C yang dilanjutkan dengan penangas air hingga diperoleh bobot tetap (Rosita *et al.*, 2017; Shinde & Chavan, 2014).

2.3.4. *Fraksinasi ekstrak metanol daun binjai*

Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam akuades perbandingan 1:2, kemudian ditambahkan 50 mL n-heksan, digojog sampai dua lapisan dan dipisahkan. Proses ini diulang menggunakan n-heksan dengan jumlah yang sama sampai diperoleh fase n-heksan jernih. Fraksi n-heksan dipekatkan dengan penangas air hingga diperoleh bobot tetap (Khairiah *et al.*, 2018).

2.3.5. *Skrining Fitokimia*

a. *Identifikasi fenolik*

Sampel 0,1% (b/v) dilarutkan dalam metanol, diambil 1 mL dan ditambahkan dengan reagen FeCl₃ 5% sebanyak 1 mL. Warna hijau kehitaman, merah, ungu, biru, hitam pekat, dan endapan hitam menunjukkan kandungan fenolik di dalam sampel (Ramadhan *et al.*, 2021; Setiabudi, 2017).

b. *Identifikasi flavonoid*

Larutan sampel 0,1 % (b/v) dalam metanol dibagi menjadi 3 tabung sebanyak 1 mL. Sampel dinyatakan mengandung flavonoid jika setelah ditambahkan beberapa tetes NaOH 10% muncul warna kuning yang memudar setelah ditambahkan HCl 2N (Ramadhan *et al.*, 2021). Pengujian kedua ditambah 1 mL Pb(C₂H₃O₂)₂ 10% akan muncul warna coklat kekuningan (Khairiah *et al.*, 2018). Pengujian ketiga ditambah serbuk Mg dan HCl pekat 1 mL akan muncul warna kuning, jingga, merah dan hijau (Fitriyanti *et al.*, 2020).

2.3.6. *Identifikasi fenolik dan flavonoid dengan kromatografi lapis tipis*

Hasil fraksinasi konsentrasi 0,2% dalam metanol ditotolkan pada plat KLT silica gel GF₂₅₄ dan eluen etil asetat : n-heksan (3:1). Pengamatan spot KLT pada UV 254 nm dan 366 nm. Kemudian dilanjutkan dengan penyemprotan FeCl₃ 10% untuk identifikasi fenolik dan AlCl₃ 5% untuk identifikasi flavonoid. Jika setelah disemprot FeCl₃ 10% noda berubah menjadi hitam

menunjukkan kandungan fenolik (Marliani *et al.*, 2016). Jika noda berubah menjadi kuning setelah di semprot AlCl_3 5% menunjukkan positif mengandung flavonoid (Sopiah *et al.*, 2019).

2.3.7. Penetapan kadar total fenolik

Pertama, dilakukan penetapan panjang gelombang (λ) maksimal, yaitu 0,6 mL asam galat 100 ppm ditambahkan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan 5 menit, kemudian dilakukan penambahan 2 mL Na_2CO_3 10% dan dihomogenkan. Setelah didiamkan pada ruang gelap selama 70 menit, absorbansi ditetapkan dengan spektrofotometri UV-Vis dan didapatkan λ maksimal 734 nm. Seri kadar senyawa standar asam galat 6, 12, 18, 24, dan 30 ppm digunakan untuk pembuatan kurva baku. Penentuan absorbansi seri kadar dan fraksi n-heksan dilakukan dengan cara yang sama dengan penetapan panjang gelombang maksimal. Regresi linear kurva standar digunakan untuk perhitungan kadar total fenolik pada fraksi n-heksan yang diekspresikan sebagai $\mu\text{g gallic acid equivalent}$ (GAE) per mg serbuk ekstrak kering ($\mu\text{gGAE}/\text{mg}$) dan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Ramadhan, Hipmi, *et al.*, 2020; Ramadhan *et al.*, 2021):

$$\text{Kadar total fenolik} = \frac{C \times V \times Fp}{M}$$

Keterangan:

C : Konsentrasi asam galat

V : Volume fraksi

M : Berat fraksi

Fp: Faktor pengenceran

2.3.8. Penetapan kadar total flavonoid

Langkah pertama yang dilakukan adalah penentuan λ maksimal dengan 1 mL senyawa standar kuersetin 100 ppm yang ditambah 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Setelah didiamkan 8-24 menit, *scanning* panjang gelombang dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis dan diperoleh λ maksimal 415 nm. Seri kadar standar kuersetin 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm disiapkan dan digunakan untuk pembuatan kurva baku. Persiapan seri kadar dan fraksi n-heksan dilakukan dengan cara sama dengan penetapan panjang gelombang maksimal dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm (Ramadhan, Sayakti, *et al.*, 2020; Sukmawati *et al.*, 2018). Kadar total flavonoid fraksi n-heksan dihitung dengan menggunakan regresi linear kurva standar dan diekspresikan sebagai *quercetin equivalent* ($\mu\text{gQE}/\text{mg}$) yang dihitung dengan rumus berikut (Ramadhan *et al.*, 2021):

$$\text{Kadar total fenolik} = \frac{C \times V \times Fp}{M}$$

Keterangan:

C : Konsentrasi kuersetin

V : Volume fraksi

M : Berat fraksi

Fp: Faktor pengenceran

3. Hasil dan pembahasan

Ekstrak metanol daun *M. caesia* diperoleh dengan metode soxhletasi karena metode ini menggunakan titik didih pelarut sehingga menurunkan tegangan permukaan dan viskositas

pelarut. Hal tersebut menyebabkan peningkatan efisiensi penetrasi pelarut ke bagian aktif matriks simplisia, sehingga meningkatkan kelarutan senyawa yang diekstraksi sehingga lebih optimal dalam memperoleh flavonoid (Ramadhan, Hipmi, *et al.*, 2020; Rosita *et al.*, 2017).

Metanol sebagai pelarut memiliki keunggulan titik didih cukup rendah sehingga mempermudah pemisahannya, terlebih flavonoid mampu larut dalam metanol (Tanaya *et al.*, 2015). Penelitian Ramadhan *et al.* (2020) menguatkan pernyataan tersebut karena hasil total fenolik dan flavonoid dengan metode soxhletasi metanol lebih tinggi dari penelitian Rosita *et al.* (2017) yang menggunakan etanol dengan metode yang sama.

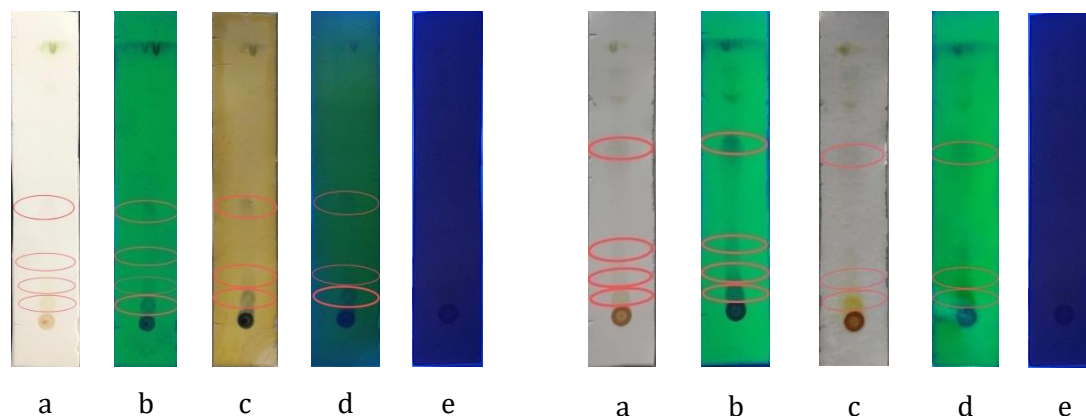
Proses fraksinasi menggunakan pelarut organik dengan polaritas yang berbeda, untuk memisahkan komponen ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran memberikan pemisahan yang lebih baik terutama untuk ekstrak yang memiliki golongan fenolik dan flavonoid yang berbeda-beda (Ramadhan *et al.*, 2021). Proses fraksinasi dimulai dengan n-heksan sebagai pelarut non polar, dilanjutkan penambahan air yang berperan sebagai pelarut polar. Fraksinasi dimulai dengan pelarut non polar agar proses pengikatan senyawa bertahap (Rahayu *et al.*, 2015). Hasil rendemen fraksi n-heksan pada penelitian ini sebesar 4,46%. Hasil tersebut menunjukkan rendemen yang lebih kecil jika dibandingkan dengan fraksi air (11,68%), akan tetapi lebih besar dari fraksi etil asetat (3,6%) ekstrak metanol (Rauf, 2020; Ulya, 2020).

Hasil skrining fitokimia fraksi n-heksan ekstrak metanol daun *M. caesia* menunjukkan positif mengandung fenolik dan flavonoid (Tabel 1). Kandungan fenolik dan flavonoid memiliki peranan penting dalam menghasilkan aktivitas biologis. Genus *Mangifera* khususnya *M. indica* (Mangga) terkenal dengan kandungan fitokimia utama golongan fenolik yaitu mangiferin. Senyawa ini merupakan glikosida xanton yang memiliki banyak sifat bioaktif potensial seperti antidiabetes, antiinflamasi, antioksidan, antitumor, antivirus dan sebagai imunomodulator (Shinde & Chavan, 2014). Flavonoid juga merupakan sekelompok besar senyawa polifenolik yang memiliki struktur benzo- γ -piron dan banyak terkandung dalam tanaman. Flavonoid juga banyak bertanggung jawab atas berbagai aktivitas farmakologis. Khasiat yang banyak dihasilkan oleh flavonoid yaitu sebagai antibakteri, hepatoprotektif, antiinflamasi, antikanker, dan agen antivirus. Potensi ini dapat menjadikan flavonoid sebagai basis agen farmasi untuk pengobatan banyak penyakit menular dan penyakit degeneratif (Kumar & Pandey, 2013).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia fraksi n-heksan ekstrak metanol daun *M. caesia*

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Fenolik	FeCl ₃ 5%	Terbentuk endapan hitam	(+)
Flavonoid	NaOH 10% + HCl	Terbentuk warna kuning setelah ditambah pereaksi NaOH, memudar setelah penambahan HCl	(+)
	Pb(CH ₃ COOH) ₂ 10%	Tidak terbentuk warna coklat kekuningan	(-)
	Mg + HCl	Terbentuk warna kuning kehijauan	(+)

Uji kualitatif fraksi n-heksan ekstrak metanol daun binjai dengan metode KLT yang dilanjutkan dengan penyemprotan FeCl_3 10% menunjukkan kandungan fenolik yang ditunjukkan dengan warna biru kehitaman pada nilai Rf: 0,083; 0,15; dan 0,41 (Gambar 1). Selain itu, terbentuk warna kekuningan setelah disemprot menggunakan AlCl_3 5% yang menunjukkan keberadaan flavonoid pada nilai Rf: 0,083; 0,15; 0,60 (Gambar 2).



Gambar 1. Hasil identifikasi senyawa fenolik (a) Secara visual (b) Pengamatan sinar UV 254 nm (c) Secara visual setelah penyemprotan FeCl_3 (d) Pengamatan sinar UV 254 nm setelah disemprot FeCl_3 (e) Pengamatan sinar UV 366 nm setelah disemprot FeCl_3

Gambar 2. Hasil identifikasi senyawa flavonoid (a) Secara visual (b) Pengamatan sinar UV 254 nm (c) Secara visual setelah disemprot AlCl_3 (d) Pengamatan sinar UV 254 nm setelah disemprot AlCl_3 (e) Pengamatan sinar UV 366 nm setelah disemprot AlCl_3

Metode kolorimetri *Folin-Ciocalteu* digunakan untuk menetapkan kadar total fenolik fraksi n-heksan dari ekstrak metanol daun *M. Caesia* (Ramadhan *et al.*, 2021) dengan menggunakan asam galat sebagai senyawa standar karena sifatnya yang stabil dan termasuk asam fenolik sederhana (Ahmad *et al.*, 2015). Perubahan warna kuning menjadi biru setelah ditambahkan larutan Na_2CO_3 menunjukkan hasil yang positif terdapat kandungan fenolik dalam sampel uji (Ramadhan *et al.*, 2021).

Pada panjang gelombang maksimum 734 nm seri kadar asam galat memberikan persamaan regresi linear $y = 0,0221x + 0,1105$ dan nilai koefisien korelasi (r) 0,997. Hasil penetapan kadar total fenolik fraksi n-heksan ekstrak metanol daun *M. caesia* menunjukkan terdapat 45,2 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ fraksi atau 4,5% (Tabel 2). Hasil ini lebih kecil dari fraksi air yaitu 782 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ fraksi (Rauf, 2020) dan juga fraksi etil asetat ekstrak metanol 430 $\mu\text{gGAE}/\text{mg}$ fraksi (Ulya, 2020). Hal ini dikarenakan sifat senyawa fenolik yang cenderung polar, sehingga kelarutan senyawa fenolik pada bagian non polar seperti n-heksan biasanya lebih rendah (Ramadhan *et al.*, 2021). Namun demikian, fraksi n-heksan ekstrak metanol daun *M. caesia* masih berpotensi untuk diteliti lebih dalam karena kadar total fenolik yang terkandung masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar total fenolik fraksi etil asetat buah binjai pada penelitian Paulinus *et al.* (2015) yaitu 19,52 $\mu\text{gTAE}/\text{mg}$ fraksi.

Tabel 2. Hasil perhitungan kadar fenolik total

Sampel	Absorbansi Sampel	Gallic acid equivalent/GAE (%b/b)	Rata-rata GAE ± SD (%b/b)
Fraksi n-heksan daun binjai 500 ppm	0,606	4,48	4,52 ± 0,04
	0,608	4,50	
	0,638	4,57	

Metode kolorimetri dengan pereaksi kompleks $AlCl_3$ digunakan untuk menetapkan kadar total flavonoid fraksi n-heksan ekstrak metanol daun *M. caesia* dengan kuersetin sebagai senyawa standar (Ramadhan *et al.*, 2021). Pembentukan warna kuning sebagai indikator positif terjadi karena terbentuk kompleks antara $AlCl_3$ dan gugus ortohidroksil pada cincin A atau B flavonoid yang distabilkan dengan penambahan asam asetat (Ahmad *et al.*, 2015).

Tabel 3. Hasil perhitungan kadar total flavonoid

Sampel	Absorbansi Sampel	Quercetin equivalent/QE (%b/b)	Rata-rata QE ± SD (%b/b)
Fraksi n-heksan daun binjai 500 ppm	0,666	16,64	16,51 ± 0,17
	0,649	16,26	
	0,665	16,62	

Seri kadar kurva baku kuersetin yang diuji pada panjang gelombang 415 nm menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0,0089x - 0,0745$ dan nilai koefisien korelasi (r) 0,9978. Hasil perhitungan kadar total flavonoid pada fraksi memberikan hasil 165,06 μ gQE/mg fraksi atau 16,51% (Tabel 3). Kadar ini lebih kecil jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat yaitu 274,32 μ gQE/mg fraksi (Ulya, 2020), namun lebih tinggi dari fraksi airnya yaitu 118,8 μ gQE/mg fraksi (Rauf, 2020). Perbedaan hasil ini dapat disebabkan sifat senyawa flavonoid yang terkandung pada daun binjai memiliki polaritas yang beragam dan lebih banyak bersifat semi polar, seperti yang disebutkan oleh Kumar & Pandey (2013) bahwa berbagai flavonoid yang ditemukan di alam memiliki sifat fisik, kimia, dan fisiologis yang berbeda satu sama lain. Namun demikian, kadar flavonoid pada *M. caesia* ini masih lebih besar jika dibandingkan dengan spesies *Mangifera* lain, misalnya pada penelitian Bakti *et al.* (2017) dengan kadar total flavonoid ekstrak etanol daun kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) sebesar 0,093 μ gQE/mg ekstrak (9,3%). Serta pada penelitian kulit batang kasturi, Ramadhan *et al.* (2021) melaporkan kadar total flavonoid fraksi etil asetat ekstrak metanolnya sebesar 5,15 μ gQE/mg fraksi.

4. Kesimpulan

Fraksi n-heksan ekstrak metanol daun *Mangifera caesia* Jack. ex. Wall memiliki kadar total fenolik 45,19 µgGAE/mg dan flavonoid 165,06 µgQE/mg. Oleh karena itu, fraksi ini berpotensi ditelusuri lebih lanjut dan dikembangkan sebagai obat tradisional.

Ucapan terima kasih

Penelitian ini memperoleh pendanaan melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun Anggaran 2020 yang diselenggarakan oleh Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (KEMENRISTEK DIKTI) Republik Indonesia.

Daftar pustaka

- Adham, D., Taufiqurrahman, I., & Helmi, Z. N. (2019). Flavonoid Level Analysis of Binjai Leaf Extract (*Mangifera caesia*) in Ethanol, Methanol, and n-Hexane Solvents. *Dentino: Jurnal Kedokteran Gigi*, 4(1), 46-49.
- Ahmad, A., Juwita, J., & Ratulangi, S. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2, 1-10. doi:10.7454/psr.v2i1.3481
- Bakti, A. A., Triyasmono, L., & Rizki, M. I. (2017). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 4 102-108. doi:http://dx.doi.org/10.20527/jps.v4i1.5762
- Cefali, L. C., Ataide, J. A., Fernandes, A. R., Sousa, I. M. O., Gonçalves, F., Eberlin, S., Dávila, J. L., Jozala, A. F., Chaud, M. V., Sanchez-Lopez, E., Marto, J., d'Ávila, M. A., Ribeiro, H. M., Foglio, M. A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G. (2019). Flavonoid-Enriched Plant-Extract-Loaded Emulsion: A Novel Phytocosmetic Sunscreen Formulation with Antioxidant Properties. *Antioxidants (Basel)*, 8(10). doi:10.3390/antiox8100443
- Dwidhanti, F., Taufiqurrahman, I., & Sukmana, B. i. (2018). Cytotoxicity Test of Binjai Leaf (*Mangifera caesia*) Ethanol Extract in Relation to Vero Cells. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 51, 108. doi:10.20473/j.djmg.v51.i3.p108-113
- Fitriyanti, F., Norhavid, M. F. R., & Ramadhan, H. (2020). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *Pharmacoscript*, 3(2), 144-149. doi:https://doi.org/10.36423/pharmacoscript.v3i2.400
- Ismail, N. A., Bakar, M. F. A., Bakar, F. I. A., Rahim, A. C., & Murdin, N. (2019). Underutilized *Mangifera* Species (*Mangifera caesia*, *Mangifera quadrifida* and *Mangifera odorata*) from Borneo: A Potential Source of Natural Antioxidant. *Journal of Engineering and Applied Sciences*, 14(4), 1169-1177. doi:http://dx.doi.org/10.36478/jeasci.2019.1169.1177
- Khairiah, K., Taufiqurrahman, I., & Putri, D. K. T. (2018). Antioxidant Activity Test of Ethyl Acetate Fraction of Binjai (*Mangifera caesia*) Leaf Ethanol Extract. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 51(4), 164-168. doi:http://dx.doi.org/10.20473/j.djmg.v51.i4.p164-168
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Scientific World Journal*, 2013, 162750. doi:10.1155/2013/162750
- Marliani, L., Naimah, A., & Roni, A. (2016). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang dan Kulit Buah Kasturi (*Mangifera casturi*).

- Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences, 3, 275-281.
doi:<https://doi.org/10.25026/mpc.v3i2.121>
- Paulinus, Y. V. G., Jayuska, A., Ardiningsih, P., & Nofiani, R. (2015). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Fraksi Etil Asetat Buah Palasu (*Mangifera caesia* Jack). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1), 47-50.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Bawang Merah sebagai Antioksidan Alami. *al-Kimiya*, 2, 1-8.
doi:10.15575/ak.v2i1.345
- Ramadhan, H., Hipmi, A. F., & Sayakti, P. I. (2020). Antioxidant Activity of Binjai Leaves (*Mangifera caesia* Jack. Ex. Wall) Methanol Extract from South Kalimantan using DPPH and CUPRAC Methods. Paper presented at the The 1st ITB International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Bandung.
- Ramadhan, H., Sayakti, P. I., Ulya, R., Hidayati, M. P., Z.P, & Rauf, A. (2020). Phenol-Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Fraction and Aqueous Fraction of Binjai (*Mangifera caesia* Jack. Ex. Wall) Leaves Methanol Extract from South Kalimantan. Paper presented at the 3rd Joint Conference UNAIR-USM International Conference of Pharmacy and Health Sciences 2020, Surabaya.
- Ramadhan, H. Q., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8 (1), 58-67.
- Rauf, A. (2020). Penetapan Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Fraksi Air dari Ekstrak Metanol Daun Binjai (*Mangifera Caesia* Jack. Ex. Wall.) menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. (Bachelor). STIKES Borneo Lestari, Banjarbaru.
- Rosita, J. M., Taufiqurrahman, I., & Edyson, E. (2017). Perbedaan Total Flavonoid Antara Metode Maserasi dengan Sokletasi pada Ekstrak Daun Binjai (*Mangifera caesia*) (Studi Pendahuluan terhadap Proses Pembuatan Sediaan Obat Penyembuhan Luka). *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, 1 100-105.
- Salahuddin, M. A. H., Idris, S., & Mirad, R. (2016). Natural Antioxidant Properties of Selected Wild *Mangifera* Species in Malaysia. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 44, 63-72.
- Setiabudi, D. A. (2017). Uji Skrining Fitokimia Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*). *UNESA Journal of Chemistry*, 6(3), 155-160.
- Shinde, S. S., & Chavan, A. R. (2014). Isolation of Mangiferin from Different Varieties of *Mangifera Indica* Dried Leaves. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 928-934(5), 6.
- Sopiah, B., Muliastari, H., & Yuanita, E. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27-33.
- Sukmawati, S., Sudewi, S., & Pontoh, J. (2018). Optimasi dan Validasi Metode Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot* L.) yang diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *PHARMACON*, 7(3), 32-41.
- Tanaya, V., Retnowati, R., & Suratmo, S. (2015). Fraksi Semi Polar dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera Casturi* Kosterm). *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1(1), 778-784.
- Ulya, R. (2020). Penetapan Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Metanol Daun Binjai (*Mangifera Caesia* Jack. Ex. Wall.) menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. (Bachelor). STIKES Borneo Lestari, Banjarbaru.

Isolation of endophytic fungi from benalu batu (*Begonia Medicinalis*) and their toxicity on *Artemia Salina*

Isolasi jamur endofit dari benalu batu (*Begonia Medicinalis*) dan toksisitasnya terhadap *Artemia Salina*

Syariful Anam^{1*}, Armini Syamsidi¹, Musyahidah¹, Nurul Ambianti¹, Agustinus Widodo¹,
Muhammad Sulaiman Zubair¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

* Corresponding author: syarifulanam1@gmail.com

Abstract

Background: Endophytic fungi are microorganisms found in plant tissues that are mutually beneficial to the host plant. They are known as sources of bioactive metabolites which possess various biological activities such as antimicrobial, anticancer, antiviral, antifungal, and antioxidant. Benalu batu (*Begonia medicinalis*) has been used empirically as a medicinal plant and has shown anticancer activity in breast cancer cells (T47D cells) and cervical cancer cells (HeLa cells).

Objective: This study aimed to isolate the endophytic fungi from benalu batu and determine the toxicity activity and Lethal Concentration 50% (LC₅₀) value of isolated endophytic fungi using shrimp larvae (*Artemia salina*).

Method: Endophytic fungi were isolated from fresh parts; leaves, stems, roots of Benalu Batu. The selected parts were sterilized with ethanol 70% and sodium hypochlorite 1% subsequently placed into Potato Dextrose Agar Chloramphenicol (PDAC) then incubated at 28°C for 7 days. Isolated endophytic fungi were extracted by sonication method using ethyl acetate. The toxicity activity of isolated endophytic fungi was determined using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).

Results: Isolation of the endophytic fungi from benalu batu obtained 10 isolates, which the leaves part obtained 6 isolates, the stem obtained 3 isolates and the root obtained 1 isolate. The results of screening for toxicity test of 10 isolates at concentrations of 500 µg/mL shown that isolate D3, D5, and D6 gave 100% mortality. The LC₅₀ values of isolate D3, D5, and D6 were obtained respectively in 448.03, 8.784, and 9.13 µg/mL.

Conclusion: These results indicated that isolate D5 exhibits the greatest toxicity and needs to be investigated the activity for testing on cancer cells.

Keywords: endophytic fungi, *Begonia medicinalis*, toxicity, *Artemia salina*

Intisari

Latar belakang: Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat dalam jaringan tumbuhan yang bersifat mutualisme terhadap tumbuhan inang. Jamur endofit telah diketahui sebagai sumber metabolit yang memiliki beberapa aktivitas biologi seperti antimikroba, antikanker, antivirus, antijamur, dan antioksidan. Tumbuhan benalu batu (*B. medicinalis*) telah digunakan secara empiris dan terbukti memiliki aktivitas antikanker pada sel kanker payudara (Sel T47D) dan sel kanker leher rahim (Sel HeLa).

Tujuan: Studi ini bertujuan untuk melakukan isolasi jamur endofit dari benalu batu dan mengetahui toksisitas isolat jamur endofit serta menentukan nilai *Lethal Concentration* 50% (LC₅₀) terhadap larva udang (*Artemia salina*)

Metode: Jamur endofit diisolasi dari bagian segar; daun, batang, akar benalu batu. Bagian-bagian tersebut disterilisasi dengan etanol 70% dan natrium hipoklorit 1% selanjutnya diletakkan pada media *Potato Dextrose Agar Chloramphenicol* (PDAC) kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari. Isolat jamur endofit diekstraksi dengan metode sonikasi menggunakan etil asetat. Aktivitas toksisitas isolat jamur endofit ditentukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Hasil: Isolasi jamur endofit dari benalu batu diperoleh 10 isolat, bagian daun diperoleh 6 isolat, bagian batang diperoleh 3 isolat dan bagian akar diperoleh 1 isolat. Hasil penapisan uji toksisitas 10 isolat pada konsentrasi 500 µg/mL menunjukkan bahwa isolat D3, D5, dan D6 memberikan persentase mortalitas

sebesar 100%. Nilai LC_{50} isolat D3, D5, dan D6 diperoleh masing-masing sebesar 448,03, 8,784, dan 9,13 $\mu\text{g/mL}$.

Kesimpulan: Hasil ini menunjukkan isolat D5 memiliki toksisitas paling besar dan perlu dilanjutkan untuk pengujian pada sel kanker.

Kata kunci : jamur endofit, *Begonia medicinalis*, toksisitas, *Artemia salina*

1. Pendahuluan

Produk alami merupakan metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme seperti alkaloid, terpen, steroid, poliketida, lignan, ester, flavonoid (Newman & Cragg, 2016). Ratusan produk alami tersebut telah memasuki tahap pengembangan hingga ke fase klinik, diantaranya sebagai antikanker dan antimikroba (Newman & Cragg, 2020). Paclitaxel yang diisolasi dari *Taxus brevifolia* (Roopa *et al.*, 2015) dan camptothecin (Li *et al.*, 2017) yang diisolasi dari *Camptotheca acuminata* merupakan contoh metabolit yang diperoleh dari tumbuhan dengan aktivitas sebagai antikanker. Namun demikian, isolasi metabolit dari tumbuhan memiliki beberapa tantangan diantaranya membutuhkan lahan dan mengancam keberlangsungan tumbuhan tersebut yang sebagian besar adalah spesies langka serta kandungan metabolit yang dapat berubah disebabkan faktor tempat tumbuh dan iklim yang berubah (Kharwar *et al.*, 2011). Oleh karena itu, penggunaan mikroorganisme yang memiliki sifat simbiosis mutualisme dengan tumbuhan seperti jamur endofit merupakan salah satu cara alternatif dalam memproduksi suatu metabolit baru yang berpotensi sebagai bahan baku obat baru.

Jamur endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat dalam jaringan tumbuhan yang bersifat mutualisme terhadap tumbuhan inang dimana mikroorganisme ini tidak menyebabkan kerusakan pada tumbuhan inangnya (Jia *et al.*, 2016; Malik *et al.*, 2020). Jamur endofit telah diketahui berperan sebagai sumber metabolit yang memiliki beberapa aktivitas biologi seperti antimikroba, antikanker, antivirus, antijamur, dan antioksidan (Jalgaonwala *et al.*, 2017). Pemanfaatan jamur endofit sebagai sumber metabolit berkembang pesat disebabkan diantaranya kemampuannya dalam memproduksi metabolit tanpa harus menggunakan lahan dan waktu yang relatif singkat dan berdampak baik pada konservasi tumbuhan khususnya spesies langka (de Carvalho *et al.*, 2021).

Studi ini menggunakan salah satu tumbuhan endemik Sulawesi Tengah khususnya masyarakat suku Wana Kabupaten Morowali Utara dalam penyembuhan penyakit tumor yaitu tumbuhan benalu batu (*Begonia sp*) (Anam *et al.*, 2014). Penelitian sebelumnya, ditemukan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada benalu batu yaitu flavonoid, polifenol, tanin dan saponin (Ritna *et al.*, 2016). Tumbuhan ini juga memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (T47D) dan sel kanker leher rahim (HeLa), dimana senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut yaitu glikosida steroid (Zubair *et al.*, 2020;

Zubair *et al.*, 2021). Pada penelitian lainnya, fraksi dari benalu batu (*B. medicinalis*) terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antivirus (Zubair *et al.*, 2021). Oleh karena itu, studi ini dilakukan dengan tujuan untuk melakukan isolasi jamur endofit dari benalu batu dan mengetahui toksisitas isolat jamur endofit serta menentukan nilai *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}) terhadap larva udang (*Artemia salina*), studi ini diharapkan menghasilkan isolat jamur endofit yang memiliki aktivitas biologi sehingga dapat menjadi sumber metabolit dan bahan baku obat dimasa depan.

2. Metode

2.1. Alat dan bahan

Dalam penelitian ini digunakan beberapa peralatan antara lain: autoklaf (Eleya®), oven (Oxone), laminar air flow (LAF) (Stremlin®), inkubator (EyeleSLI®400), mikroskop binokuler (Olympus), Sonikator (DELTA D68H Ultrasonic Cleaner), Erlenmeyer (Pirex®), gelas kimia (Pirex®), cawan petri (Pirex®), gelas ukur (Pirex®), mikropipet (Socorex), timbangan analitik (Ohaus®).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benalu batu (*B. medicinalis*) meliputi daun, batang dan akar dari tumbuhan tersebut, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Merck), kloramfenikol, air suling steril (Water One), Etanol 70% (Brataco), Natrium hipoklorit 1%, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) (Merck), metanol, etil asetat (Brataco), lempeng KLT G60 F254 (Merck), dan larva udang (*Artemia salina*).

2.2. Pengambilan dan identifikasi sampel tumbuhan

Pengambilan sampel tumbuhan benalu batu dilakukan di Desa Wawopada, Kecamatan Lembo, Kabupaten Morowali Utara, Propinsi Sulawesi Tengah. Tumbuhan diidentifikasi di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Sumber Daya Hayati Sulawesi Tengah (Herbarium Celebense) Universitas Tadulako Palu.

2.3. Isolasi jamur endofit

Prosedur isolasi jamur endofit menggunakan metode tanam langsung mengikuti (Hasiani, 2015; Malik *et al.*, 2020) dengan sedikit modifikasi yaitu sampel berupa daun, batang dan akar dicuci dengan air suling steril, direndam etanol 70% selama 2 menit, larutan natrium hipoklorit 1% selama 2 menit dan terakhir dibilas dengan air suling steril sebanyak tiga kali. Selanjutnya, potongan sampel dikeringkan di atas kasa steril. Sampel bagian daun, batang dan akar dipotong kecil kemudian diletakkan di media PDAC (*Potato Dextrosa Agar Chloramphenicol*) dengan posisi permukaan belahan yang telah dikerik menempel pada agar medium. Tiap cawan berisi 3 potongan sampel. Prosedur isolasi dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF), dan selanjutnya sampel diinkubasi selama 7x24 jam pada suhu 28°C. Isolat endofit yang menunjukkan sifat morfologi jamur dipindahkan ke media PDAC yang baru.

2.4. Pemurnian jamur endofit

Jamur endofit yang telah tumbuh pada media isolasi PDAC, kemudian secara bertahap dimurnikan. Masing-masing isolat murni jamur endofit yang diperoleh, kemudian dipindahkan ke dalam media PDAC baru. Pemurnian ini bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan morfologi berbeda untuk dijadikan isolat tersendiri. Pengamatan makroskopik dilakukan setelah 5-7 hari, apabila masih ditemukan koloni yang berbeda maka harus dipisahkan kembali sampai diperoleh isolat murni. Isolat murni kemudian disimpan sebagai stok kultur (Hasiani, 2015).

2.5. Karakterisasi jamur endofit

Karakterisasi isolat jamur endofit dilakukan dengan cara makroskopik dengan mengamati warna dari koloni isolat jamur endofit dan secara mikroskopik langsung (Hasiani, 2015). Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop yaitu cuplikan isolat diletakkan pada kaca objek lalu ditetesi *methylene blue* setelah itu dilakukan pengamatan yang meliputi pengamatan hifa, spora, konidia (Suhartina *et al.*, 2018).

2.6. Ekstraksi jamur endofit

Isolat jamur endofit diinokulasi tiga titik pada media PDA sebanyak lima petri, selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari. Setelah 7 hari, isolat endofit diekstraksi sebanyak dua kali menggunakan alat sonikator pada frekuensi 48 KHz selama 30 menit dengan merendam isolat jamur endofit dalam 100 mL pelarut etil asetat. selanjutnya disaring dan filtrat diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental (Malik *et al.*, 2020)

2.7. Pengujian toksisitas secara Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Pengujian ini dimodifikasi dari penelitian sebelumnya (Puspitasari *et al.*, 2018) yang menggunakan vial 10 mL diisi dengan 500 µL larutan uji (pada penapisan awal diperoleh dari 10 isolat jamur endofit yang dilakukan dengan menggunakan konsentrasi akhir dalam vial 500 µg/mL. Pada penentuan nilai LC₅₀ isolat jamur endofit D3, D5, dan D6 dibuat seri konsentrasi akhir dalam vial 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,8 dan 3,9 µg/mL. Adapun untuk kontrol DMSO digunakan konsentrasi akhir dalam vial 2%). Selanjutnya, ditambahkan air laut buatan dan 10 ekor larva *A. salina* yang telah berumur 48 jam, kemudian ditambah dengan air laut buatan hingga mencapai volume 5 mL. Setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol DMSO. Pengujian ini dilakukan selama 24 jam kemudian dilihat jumlah kematian larva *A. salina*.

Uji toksisitas dari suatu sampel ditentukan dengan besar nilai dari LC₅₀ yang dapat mematikan 50% populasi *A. salina*. Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan menghitung persen kematian sesuai dengan rumus berikut :

$$\text{Persen Kematian} = \frac{(\text{jumlah larva kontrol} - \text{jumlah larva hidup}) \times 100\%}{\text{jumlah larva kontrol}}$$

Selanjutnya dibuat plot antara konsentrasi dan persen kematian larva dengan menggunakan program GraFit versi 5.0 (Erithacus Software Limited, Horley, Surrey, RH6 9YJ, UK): untuk memperoleh nilai LC₅₀.

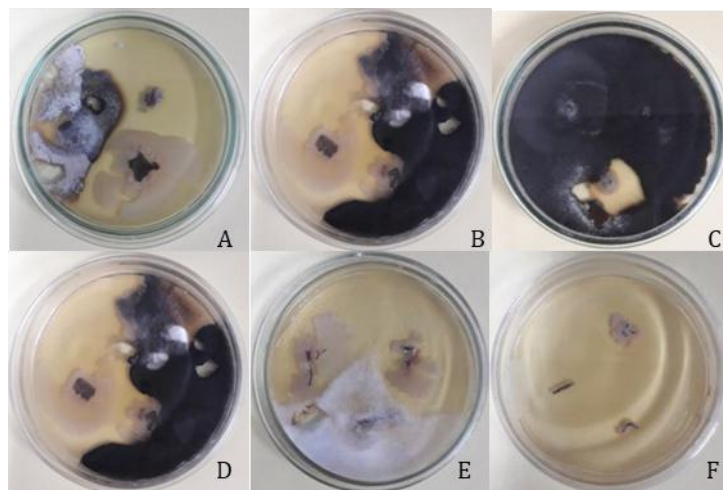
3. Hasil dan pembahasan

3.1. Identifikasi sampel tumbuhan

Sampel tumbuhan benalu batu (*B. medicinalis*) yang digunakan pada penelitian ini yaitu bagian daun, batang dan akar. Tumbuhan ini diperoleh dari Desa Wawopada, Kabupaten Morowali Utara Provinsi Sulawesi Tengah. Proses identifikasi sampel tumbuhan dilakukan di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Sumber Daya Hayati Sulawesi Tengah (Herbarium Celebense) Universitas Tadulako Palu yang menyatakan bahwa sampel tumbuhan ini adalah benar tumbuhan benalu batu (*Begonia medicinalis*).

3.2. Isolasi jamur endofit

Jumlah isolat jamur endofit yang telah berhasil diisolasi dari bagian daun, batang dan akar benalu batu dapat dilihat pada gambar di bawah ini :

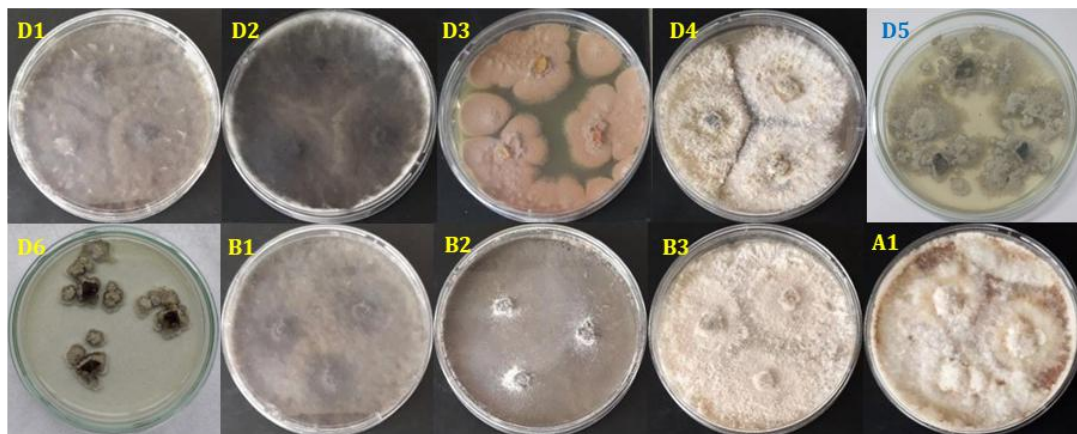


Gambar 1. Hasil isolasi jamur endofit dari berbagai bagian dari tumbuhan benalu batu (*B. medicinalis*) A = bagian daun petri 1, B = bagian daun petri 2, C = bagian batang petri 1, D = bagian batang petri 2, E = bagian akar petri 1, F = bagian akar petri 2

Pengamatan makromorfologi pada cawan petri hasil isolasi jamur endofit pada Gambar 1 tampak koloni yang tumbuh adalah koloni jamur, dengan demikian proses isolasi yang dilakukan pada bagian daun, batang dan akar berhasil dan dilanjutkan pada proses pemurnian isolat jamur endofit. Pada gambar 1A dan 1B yang merupakan bagian daun menunjukkan diversifikasi koloni yang beragam dengan ditandai bentuk dan warna koloni yang beragam. Hal ini berbanding terbalik dengan bagian akar (gambar 1E dan 1F) terlihat hanya 1 koloni yang tumbuh.

3.3. Pemurnian jamur endofit

Proses pemurnian dilakukan dengan mencuplik isolat jamur pada petri isolasi (Gambar 1) berdasarkan perbedaan bentuk dan warna koloni. Cuplikan tersebut ditumbuhkan kembali pada media PDAC yang baru dan diamati setelah inkubasi 5-7 hari, dan hasil pemurnian menunjukkan hanya satu koloni yang tumbuh. Hasil pemurnian diperoleh 10 isolat yang memberikan penampakan makromorfologi yang berbeda satu dengan lainnya, yaitu 6 isolat dari bagian daun (kode D1 sampai D6), 3 isolat dari bagian batang (kode B1 sampai B3) dan 1 isolat dari bagian akar (kode A1). Adapun hasil pemurnian isolat jamur endofit dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 2. Isolat murni jamur endofit dari daun, batang dan akar benalu batu (*B. medicinalis*)
D1=isolat daun 1, D2=isolat daun 2, D3=isolat daun 3, D4=isolat daun 4, D5=isolat daun 5, D6=isolat daun 6,
B1=isolat batang 1, B2=isolat batang 2, B3=isolat batang 3, A1=isolat akar 1

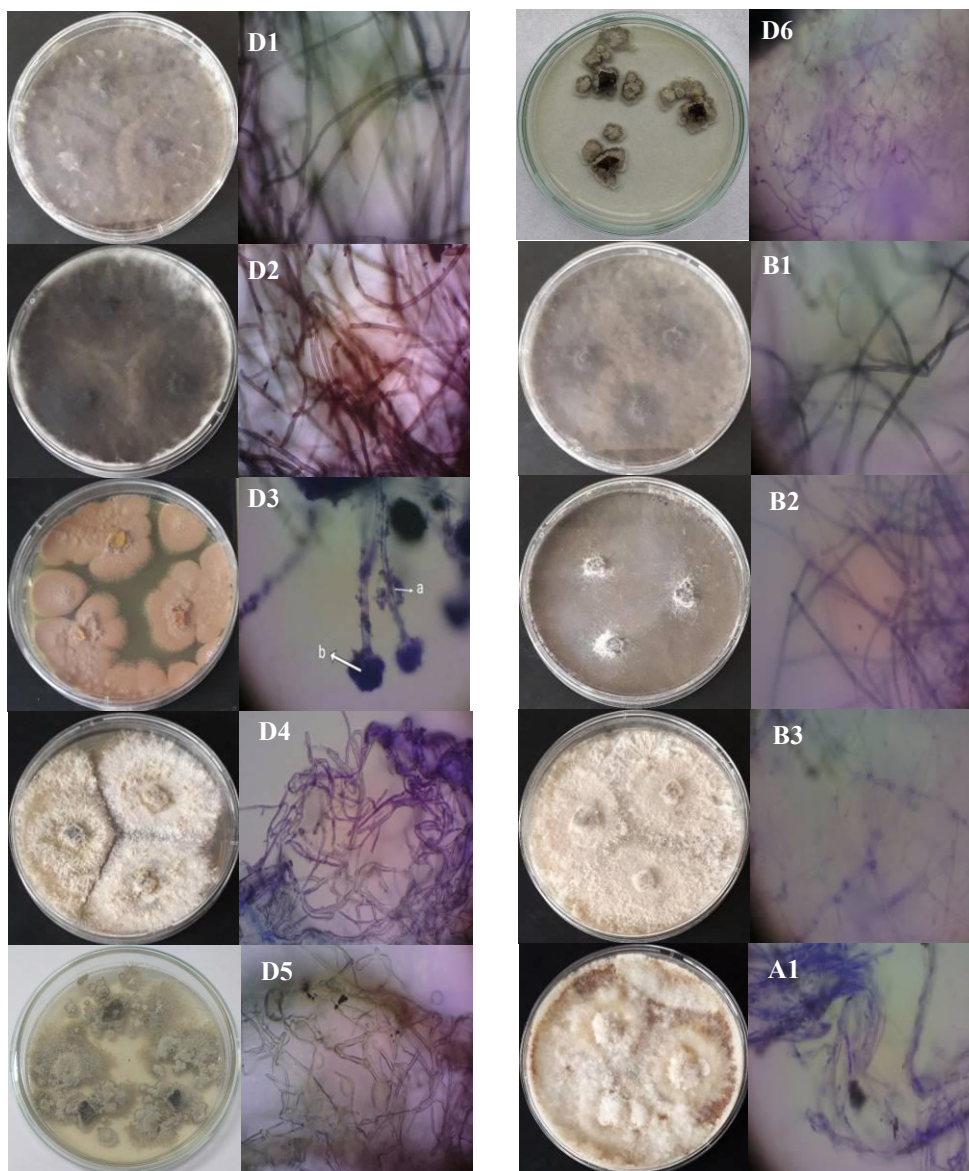
3.4. Karakterisasi jamur endofit

Karakterisasi isolat jamur endofit dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu makroskopik (pengamatan bentuk dan warna koloni menggunakan mata), mikroskopik (pengamatan bentuk spora, hifa, konidia menggunakan alat mikroskop), dan molekuler (identifikasi dengan mengekstraksi DNA). Studi ini hanya dibatasi dengan melakukan karakterisasi secara makroskopik dan mikroskopik. Karakterisasi isolat murni jamur endofit dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 3.

Tabel 1. Makroskopik isolat jamur endofit Benalu batu (*B. medicinalis*)

No.	Kode isolat	Karakteristik makroskopik isolat jamur endofit
1.	D1	Koloni mula-mula berwarna hitam putih, tumbuh kurang lebih sekitar 3 hari, setelah 7 hari berwarna hitam, pertumbuhan koloni rata, tebal, berserabut dan sangat lunak.
2.	D2	Koloni berwarna hitam putih, setelah 7 hari berwarna hitam, pertumbuhan koloni berserabut tebal, lunak dan rata.
3.	D3	Koloni berwarna coklat, tidak berserabut, tumbuh sekitar 3 hari, pertumbuhan koloni tipis, sangat lunak dan tidak merata.
4.	D4	Koloni berwarna putih, berserabut, pertumbuhan koloni tipis, sangat lunak dan merata, tumbuh sekitar 3 hari.
5.	D5	Koloni berwarna putih, ditengah terdapat warna hitam, koloni tidak berserabut serta agak keras, pertumbuhan koloni tipis dan tidak merata.

No.	Kode isolat	Karakteristik makroskopik isolat jamur endofit
6.	D6	Koloni berwarna putih, ditengah terdapat warna hitam, koloni tidak berserabut dan agak keras, pertumbuhan koloni tipis dan tidak merata.
7.	B1	Koloni berwarna hitam putih, tumbuh sekitar 3 hari, setelah 7 hari berwarna hitam, memiliki serabut, sangat lunak, pertumbuhan koloni tebal dan rata.
8.	B2	Koloni berwarna hitam, tumbuh sekitar 3 hari, setelah 7 hari tetap berwarna hitam, tidak memiliki serabut, pertumbuhan koloni tipis, lunak dan merata.
9.	B3	Koloni berwarna putih, tumbuh sekitar 3 hari, setelah 7 hari tetap berwarna putih, memiliki serabut tipis, pertumbuhan koloni merata dan sangat lunak.
10.	A1	Koloni berwarna putih, tumbuh sekitar 3 hari, pertumbuhan koloni merata dan tebal setelah 7 hari, memiliki serabut serta lunak.



Gambar 3. Pengamatan makroskopik dan mikroskopik isolat murni jamur endofit tumbuhan benalu batu (*B. medicinalis*) dengan perbesaran 400x

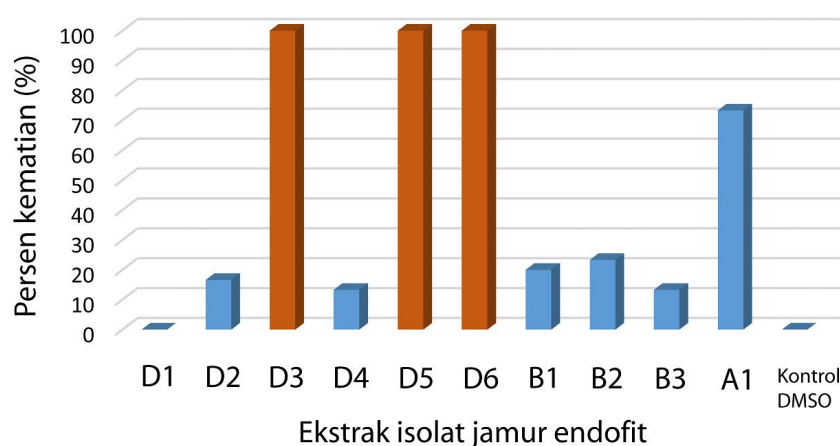
D1=isolat daun 1, D2=isolat daun 2, D3=isolat daun 3, D4=isolat daun 4, D5=isolat daun 5, D6=isolat daun 6, B1=isolat batang 1, B2=isolat batang 2, B3=isolat batang 3, A1=isolat akar

Karakterisasi mikroskopik isolat jamur endofit dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 400 kali. Pada gambar terlihat sebagian besar pengamatan terhadap isolat jamur endofit hanya mampu memperlihatkan hifa, namun spora dan konidia tidak dapat terlihat dengan baik. Oleh karena itu, studi ini sangat merekomendasikan karakterisasi dan identifikasi secara molekuler, khususnya isolat jamur endofit yang memberikan aktivitas pada larva *A. salina*.

3.5. Pengujian toksisitas secara *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Isolat jamur endofit murni selanjutnya diekstraksi sebanyak dua kali secara sonikasi menggunakan pelarut etil asetat. Kemudian hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring lalu diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang telah diperoleh diuji kemampuan toksisitasnya terhadap larva *A. Salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Larva *A. salina* digunakan sebagai bioindikator pada studi ini karena metode ini mudah, sederhana, membutuhkan sampel relatif sedikit dan larva ini memiliki kepekaan yang cukup tinggi (Puspitasari *et al.*, 2018). Oleh karena itu, uji toksisitas menggunakan larva ini digunakan sebagai penapisan awal yang dapat memberikan korelasi positif dengan daya sitotoksik bahan uji terhadap sel kanker, sehingga diharapkan studi ini akan memberikan rekomendasi isolat dan ekstrak isolat jamur endofit yang memiliki aktivitas terhadap *A. salina* untuk dilanjutkan pada pengujian menggunakan sel kanker .

Penapisan awal uji toksisitas dari 10 ekstrak isolat jamur dilakukan menggunakan metode BSLT pada konsentrasi 500 µg/ml, dengan tujuan mengetahui ekstrak yang dapat memberikan persen kematian larva udang yang tinggi. Hasil penapisan awal ini diperoleh tiga ekstrak isolat jamur endofit yang memiliki persen kematian sebesar 100% yaitu ekstrak isolat D3, D5, dan D6, dimana kontrol DMSO tidak menyebabkan kematian pada larva. Adapun hasil penapisan awal ini dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 4. Penapisan awal toksisitas 10 isolat jamur endofit *B. medicinalis* pada konsentrasi 500 µg/mL

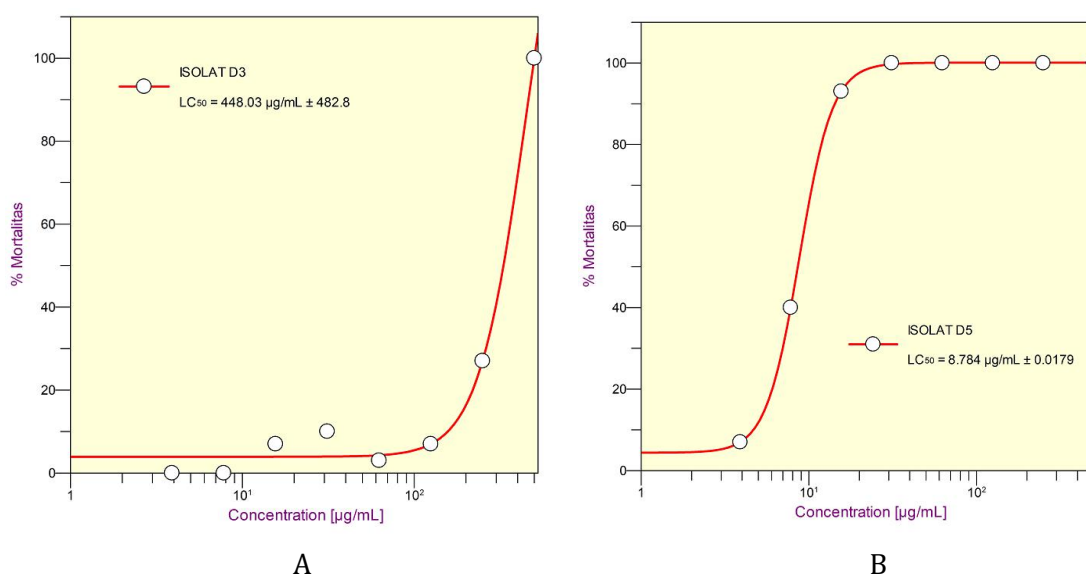
Ekstrak isolat D3, D5, dan D6, selanjutnya ditentukan nilai LC_{50} menggunakan prosedur BSLT dengan membuat seri konsentrasi 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,8, dan 3,9 $\mu\text{g/ml}$. Nilai LC_{50} diperoleh dari analisis data ekstrak isolat jamur endofit D3, D5, dan D6 menggunakan program GraFit versi 5.0. Adapun nilai LC_{50} dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

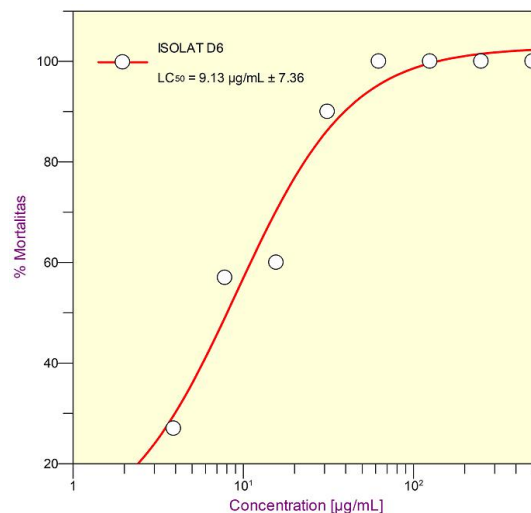
Tabel 2. Nilai LC_{50} ekstrak isolat jamur endofit D3, D5, dan D6

Ekstrak isolat jamur endofit	Nilai LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)*
D3	448,03 \pm 482,8
D5	8,784 \pm 0,018
D6	9,13 \pm 7,36

*rata-rata dari 3 kali ulangan pengujian

Hasil dari uji BSLT pada ekstrak isolat jamur endofit, diperoleh nilai LC_{50} untuk ekstrak isolat D3, D5, dan D6 yaitu 448,03; 8,784; dan 9.13 $\mu\text{g/ml}$. Menurut (Carballo *et al.*, 2002) apabila nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ maka suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT. Semakin besar nilai LC_{50} maka semakin kecil toksisitasnya, sebaliknya makin kecil nilai LC_{50} maka toksisitasnya lebih besar. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak isolat D3 memiliki efek toksisitas lebih rendah dan ekstrak isolat D5 dan D6 memiliki efek toksisitas yang lebih besar terhadap larva *A. salina*. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan persen kematian ekstrak isolat jamur endofit diplot dengan menggunakan program GraFit versi 5.0, pada grafik terlihat bahwa grafik ekstrak isolat D5 membentuk kurva sigmoid sedangkan dua isolat lainnya tidak membentuk kurva sigmoid. Hal ini menunjukkan data nilai LC_{50} pada isolat D5 valid dan hal ini sejalan dengan nilai deviasi dari LC_{50} yang kecil. Grafik antara hubungan konsentrasi dengan persen kematian ekstrak isolat D3, D5, dan D6 dapat dilihat pada gambar di bawah ini :





C

Gambar 5. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak isolat jamur endofit dengan persen kematian larva udang.

A=ekstrak isolat jamur endofit D3; B=ekstrak isolat jamur endofit D5; C=ekstrak isolat jamur endofit D6

4. Kesimpulan

Studi isolasi jamur endofit yang berasal dari benalu batu (*B. medicinalis*) diperoleh 10 isolat jamur endofit yang terdiri dari bagian daun diperoleh (enam isolat), bagian batang (tiga isolat), dan bagian akar (satu isolat). Penapisan awal uji toksisitas 10 isolat terhadap *A. salina* diperoleh isolat D3, D5, dan D6 memberikan persen kematian 100% dimana isolat jamur endofit D5 memiliki potensi yang besar dengan nilai LC₅₀ sebesar 8,784 ± 0,018 µg/ml sehingga direkomendasikan untuk pengujian lanjut pada sel kanker.

Ucapan terimakasih

Ucapan terimakasih kepada Universitas Tadulako melalui Program Hibah Dana Penelitian Unggulan Universitas Tadulako DIPA Fakultas MIPA tahun 2021.

Daftar pustaka

- Anam, S., Yuliet, Y., Ritna, A., Dwimurti, F., Rismayanti, D., & Zubair, M. S. (2014). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Benalu Batu (*Begonia* sp.): Ethnomedicine Suku Wana Sulawesi Tengah. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12 (1), 10-16.
- Carballo, J. L., Hernández-Inda, Z. L., Pérez, P., & García-Grávalos, M. D. (2002). A Comparison between Two Brine Shrimp Assays to Detect In Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnol*, 2, 17. doi:10.1186/1472-6750-2-17
- de Carvalho, C. R., Maia, M. Q., Sobral, M., Pereira, G. M. D., da Silva, K., Vital, M. J. S., Zilli, J. É., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2021). Diversity and antimicrobial activity of culturable endophytic fungi associated with the neotropical ethnomedicinal plants *Copaifera langsdorffii* and *Copaifera pubiflora*. *South African Journal of Botany*, 142, 305-315. doi:https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.021

- Hasiani, V. V., Ahmad, I., & Rijai, L. (2015). Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan kesehatan*, *1*(4), 146–153. doi:<https://doi.org/10.25026/jsk.v1i4.32>
- Jalgaonwala, R. E., Mohite, B. V., & Mahajan, R. T. (2017). A Review: Natural Products from Plant Associated Endophytic Fungi. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, *1*, 21-32.
- Jia, M., Chen, L., Xin, H. L., Zheng, C. J., Rahman, K., Han, T., & Qin, L. P. (2016). A Friendly Relationship between Endophytic Fungi and Medicinal Plants: A Systematic Review. *Front Microbiol*, *7*, 906. doi:10.3389/fmicb.2016.00906
- Kharwar, R. N., Mishra, A., Gond, S. K., Stierle, A., & Stierle, D. (2011). Anticancer Compounds Derived from Fungal Endophytes: Their Importance and Future Challenges. *Nat Prod Rep*, *28*(7), 1208-1228. doi:10.1039/c1np00008j
- Li, F., Jiang, T., Li, Q., & Ling, X. (2017). Camptothecin (CPT) and Its Derivatives are Known to Target Topoisomerase I (Top1) as Their Mechanism of Action: Did We Miss something in CPT Analogue Molecular Targets for Treating Human Disease such As Cancer? *Am J Cancer Res*, *7*(12), 2350-2394.
- Malik, A., Ardalani, H., Anam, S., McNair, L. M., Kromphardt, K. J. K., Frandsen, R. J. N., Franzyk, H., Staerk, D., & Kongstad, K. T. (2020). Antidiabetic Xanthenes with α -glucosidase Inhibitory Activities from An Endophytic *Penicillium canescens*. *Fitoterapia*, *142*, 104522. doi:10.1016/j.fitote.2020.104522
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2016). Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod*, *79*(3), 629-661. doi:10.1021/acs.jnatprod.5b01055
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J Nat Prod*, *83*(3), 770-803. doi:10.1021/acs.jnatprod.9b01285
- Puspitasari, E., Rozirwan, R., & Hendri, M. (2018). Uji Toksisitas dengan menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Pada Ekstrak Mangrove (*Avicennia Marina*, *Rhizophora Mucronata*, *Sonneratia Alba* dan *Xylocarpus Granatum*) yang Berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*, *18*, 91-103. doi:10.29303/jbt.v18i1.733
- Ritna, A., Anam, S., & Khumaidi, A. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* sp.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, *2*, 83-89. doi:10.22487/j24428744.2016.v2.i2.5957
- Roopa, G., Madhusudhan, M. C., Sunil, K. C. R., Lisa, N., Calvin, R., Poornima, R., Zeinab, N., Kini, K. R., Prakash, H. S., & Geetha, N. (2015). Identification of Taxol-producing endophytic fungi isolated from *Salacia oblonga* through genomic mining approach. *J Genet Eng Biotechnol*, *13*(2), 119-127. doi:10.1016/j.jgeb.2015.09.002
- Suhartina, S., Kandou, F. E. F., & Singkoh, M. F. O. (2018). Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit pada Tumbuhan Paku *Asplenium nidus*. *Jurnal MIPA*, *7* (2), 24-28. doi:<https://doi.org/10.35799/jm.7.2.2018.20640>
- Zubair, M. S., Alarif, W. M., Ghandourah, M. A., Anam, S., & Jantan, I. (2020). Cytotoxic Activity of 2-O- β -glucopyranosil Cucurbitacin D from Benalu Batu (*Begonia* sp.) Growing in Morowali, Central Sulawesi. *20*(4), 7. doi:10.22146/ijc.43626
- Zubair, M. S., Khairunisa, S. Q., Sulastri, E., Ihwan, Widodo, A., Nasronudin, & Pitopang, R. (2021). Antioxidant and Antiviral Potency of *Begonia medicinalis* Fractions. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, *32*(4), 845-851. doi:10.1515/jbcpp-2020-0476. (Accession No. 34214356)

Flavonoid compounds of tapak liman plant (*Elephantopus scaber*) as antihyperuricemia

Senyawa flavonoid tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber*) sebagai antihiperurisemia

Neni Sri Gunarti^{1*}, Himyatul Hidayah¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang

* *Corresponding author*: neni.gunarti@ubpkarawang.ac.id

Abstract

Background: Hyperuricemia is a condition where uric acid levels in the blood increase more than 6 mg/dL. Tapak liman (*Elephantopus scaber*) contains flavonoid compounds that are reported to inhibit the activity of the xanthine oxidase enzyme that causes hyperuricemia. Several Asteraceae tribes have activity as antihyperuricemia, one of which is the tapak liman plant (*E. scaber*) because of the compounds contained in the flavonoid group which has a working mechanism as an inhibitor of the xanthine oxidase enzyme.

Objective: To determine the types of flavonoid compounds in tapak liman (*E. scaber*) plants that have antihyperuricemic activity.

Method: This research is qualitative research using Literature Review Article (LRA) using Google Scholar, PubMed, ResearchGate, and Science direct databases with keywords related to the research topic, namely "*Elephantopus scaber*, antihyperuricemia, tapak liman, xanthine oxidase, flavonoids".

Results: Compounds from the flavonoid group in tapak liman that have the potential as antihyperuricemia are luteolin compounds, luteolin-7-glucoside, quercetin, and rutin with the mechanism of inhibiting the activity of the xanthine oxidase enzyme.

Conclusion: compounds from the flavonoid group in tapak liman that have the potential as antihyperuricemic compounds are luteolin, luteolin-7-glucoside, quercetin, and rutin.

Keywords: *Elephantopus scaber*, antihyperuricemia, tapak liman, xanthine oxidase, flavonoids

Intisari

Latar belakang: Hiperurisemia merupakan suatu kondisi terjadinya peningkatan kadar asam urat dalam darah lebih dari 6 mg/dL. Tapak liman (*E. scaber*) mengandung senyawa flavonoid yang dilaporkan dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase penyebab hiperurisemia. Beberapa suku Asteraceae memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia, salah satunya adalah tanaman tapak liman (*E. scaber*) karena adanya senyawa yang terkandung yaitu golongan flavonoid yang memiliki mekanisme kerja sebagai inhibitor enzim xantin oksidase.

Tujuan: Mengetahui jenis-jenis senyawa flavonoid dalam tanaman tapak liman (*E. scaber*) yang memiliki aktifitas sebagai antihiperurisemia.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif menggunakan Literature Review Article (LRA) menggunakan database Google Scholar, PubMed, ResearchGate dan Science direct dengan kata kunci yang berkaitan dengan topik penelitian, yaitu "*Elephantopus scaber*, antihiperurisemia, tapak liman, xantin oksidase, flavonoid".

Hasil: Senyawa golongan flavonoid pada tapak liman yang berpotensi sebagai antihiperurisemia yaitu senyawa luteolin, luteolin-7-glukosida, kuersetin, dan rutin dengan mekanisme menghambat aktivitas enzim xantin oksidase.

Kesimpulan: Senyawa golongan flavonoid pada tapak liman yang berpotensi sebagai antihiperurisemia yaitu senyawa luteolin, luteolin-7-glukosida, kuersetin, dan rutin

Kata kunci : *Elephantopus scaber*, antihyperuricemia, tapak liman, xanthine oxidase, flavonoid

1. Pendahuluan

Penanganan hiperurisemia biasanya dimulai dengan perubahan gaya hidup yaitu membatasi asupan makanan yang mengandung purin tinggi. Salah satu farmakoterapinya menggunakan allopurinol yang bekerja sebagai inhibitor enzim *xanthin oksidase* yang menghambat produksi asam urat dan sintesis purin. Allopurinol tidak dianjurkan memulai terapinya pada saat ada serangan hiperurisemia akut, tapi bisa diberikan dengan kolsikin atau OAINS. Penggunaannya seringkali dibatasi oleh efek samping yang ditimbulkan bila digunakan dalam jangka panjang seperti demam, reaksi alergi, nekrosis hati, ruam kulit, dan nefropati (Fitriani *et al.*, 2017; Perhimpunan_Reumatologi_Indonesia, 2018; Tsuchida, 2002). Beberapa suku Asteraceae memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia, salah satunya adalah tanaman tapak liman (*E. scaber*) karena adanya senyawa yang terkandung yaitu golongan flavonoid yang memiliki mekanisme kerja sebagai inhibitor enzim *xanthin oksidase* (Musdja *et al.*, 2019; Sutema, 2017). Selain flavonoid, tapak liman juga mengandung metabolit sekunder yang lain, yaitu tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid (Nasution *et al.*, 2021). Tanaman tapak liman (*E. scaber*) selain memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia, juga terbukti berkhasiat sebagai antiinflamasi, antibakteri, antivirus, diuretik, sitotoksik, dan hepatoprotektif (Harmanto *et al.*, 2019). Maka dalam pembuatan *Literature Review Article* ini dipilih tanaman tapak liman sebagai antihiperurisemia berdasarkan kandungan senyawa aktifnya, karena masih banyak masyarakat yang belum tahu manfaat atau aktivitasnya sebagai antihiperurisemia tanaman tapak liman sebenarnya banyak dijumpai di lingkungan masyarakat sekitar.

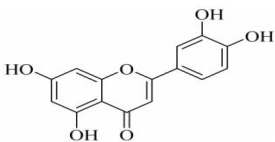
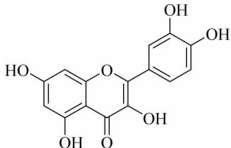
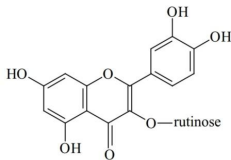
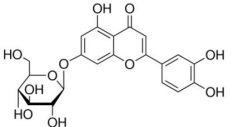
2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif menggunakan *Literature Review Article* (LRA) untuk mengetahui potensi senyawa aktif tanaman tapak liman (*E. scaber*) sebagai antihiperurisemia. Proses pencarian literatur dilakukan dengan menggunakan data yang dikumpulkan melalui instrumen pencarian *online* terbitan nasional ataupun internasional, dalam database elektronik seperti *Google Scholar*, *PubMed*, *Researchgate* dan *Science direct* dengan menggunakan kata kunci yang berkaitan dengan topik penelitian, yaitu "*Elephantopus scaber*, antihiperurisemia, tapak liman, xantin oksidase, flavonoid". Artikel atau jurnal literatur yang sudah didapatkan, kemudian disesuaikan dengan kriteria inklusi yaitu artikel 10 tahun terakhir dari database *Google Scholar*, *PubMed*, *ResearchGate* dan *Science direct* dan kriteria eksklusi yaitu literatur yang tidak sesuai topik dan selanjutnya dilakukan *review*.

3. Hasil dan pembahasan

Artikel yang digunakan merupakan artikel hasil penelitian (*original research*) sesuai dengan kata kunci dan merupakan artikel 10 tahun terakhir dari database *Google Scholar*, PubMed, *ResearchGate* dan *Science direct*. Tanaman tapak liman mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antihiperurisemia melalui mekanisme inhibitor *xanthine oxidase*. Berdasarkan hasil pencarian literatur, berikut beberapa senyawa aktif flavonoid yang berpotensi sebagai antihiperurisemia dirangkum dalam tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Senyawa aktif dan mekanisme kerja antihiperurisemia

Senyawa aktif	Struktur kimia	Desain studi	Dosis/IC ₅₀	Referensi
Luteolin		<i>In vivo</i> dan <i>in vitro</i>	- Dosis 50 mg/kg. - IC ₅₀ 4,79 µM.	(Lodhi <i>et al.</i> , 2020; Yan <i>et al.</i> , 2013)
Quersetin		<i>In vivo</i> dan <i>in vitro</i>	- Dosis 100 dan 200 mg/kg. - IC ₅₀ 2,74 µmol L ⁻¹	(Huang <i>et al.</i> , 2011; Zhang <i>et al.</i> , 2018)
Rutin		<i>In vivo</i>	- Dosis 150 dan 300 mg/kg - Dosis 25 dan 50 mg/kg	(Chen <i>et al.</i> , 2013; Huang <i>et al.</i> , 2011)
Luteolin-7-glukosida		<i>In vitro</i>	- IC ₅₀ 23,61 µM	(Song <i>et al.</i> , 2014)

Hasil dari penelusuran artikel menunjukkan bahwa tanaman tapak liman (*E. scaber*) berpotensi sebagai antihiperurisemia karena adanya kandungan senyawa golongan flavonoid yaitu luteolin, luteolin-7-glukosida, quersetin dan rutin yang terlihat dari beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti. Dari penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa flavonoid berpotensi menurunkan kadar asam urat darah dengan cara menghambat aktivitas xantin oksidase. Pada penelitian yang dilakukan Musdja *et al.*, (2019), bahwa tapak liman pada dosis 350 mg/200 g BB dapat menurunkan kadar asma urat dengan presentase tertinggi yaitu 43% (Musdja *et al.*, 2019).

Penelitian lainnya juga melaporkan bahwa tanaman tapak liman dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase yang diuji secara *in vitro* pada nilai IC_{50} sebesar 0,85-4,19 μM (Zhao *et al.*, 2020).

Luteolin (3',4',5,7-tetrahidroksiflavin) merupakan senyawa kimia golongan flavonoid yang termasuk dalam subkelas flavon. Luteolin memiliki struktur C6-C3-C6, memiliki dua cincin benzena, cincin ketiga yang mengandung oksigen, dan ikatan rangkap karbon yang merupakan struktur penting terkait dengan aktivitas biokimia dan biologisnya. Luteolin stabil terhadap panas. Lodhi *et al.*, (2020), meneliti bahwa luteolin dapat menurunkan kadar asam urat yang signifikan dengan dosis 50 mg/kg dengan adanya edema pada kaki tikus yang diinduksi kristal MSU (Lodhi *et al.*, 2020). Penelitian sebelumnya juga melaporkan, bahwa luteolin dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase secara signifikan pada nilai IC_{50} sebesar 4,79 μM dengan mengukur pembentukan asam urat menggunakan spektrofotometri secara kontinu pada panjang gelombang 290 nm dengan substrat xantin (Yan *et al.*, 2013).

Senyawa quersetin dikategorikan sebagai flavonol yang merupakan salah satu subkelas dari flavonoid. Nama IUPAC untuk quersetin adalah 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavin, dimana quersetin memiliki gugus OH yang menempel pada posisi 3,5,7,3', dan 4'. Quersetin adalah aglikon, tidak memiliki gula yang melekat. Berbentuk kristal jarum kuning yang sepenuhnya tidak larut dalam air dingin, kurang larut dalam air panas, tetapi cukup larut dalam alkohol dan lipid (Li *et al.*, 2017). Yuan *et al.*, (2019) meneliti bahwa quersetin memiliki aktivitas penghambatan enzim xantin oksidase yang diuji secara *in vitro* menggunakan spektrometer UV-Vis pada absorbansi 295 nm dengan mendapatkan nilai IC_{50} 0,0001 μmolL^{-1} (Yuan *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa quersetin secara signifikan dapat menghambat pembentukan asam urat yang dikatalisis oleh xantin oksidase dengan melakukan pengujian secara *in vitro* dengan didapatkan nilai IC_{50} pada quersetin yaitu 2,74 μmolL^{-1} (Zhang *et al.*, 2018). Huang *et al.* (2011) juga meneliti senyawa quersetin secara *in vivo*, pada dosis 100 dan 200 mg/kg quersetin dapat menghambat aktivitas xantin oksidase hati secara signifikan (Huang *et al.*, 2011).

Rutin (quersetin-3-O-rutinosida) adalah salah satu senyawa fenolik paling populer yang ditemukan di berbagai spesies tanaman (Dawidowicz *et al.*, 2016). Rutin mempunyai rumus molekul $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dengan berat molekul sebesar 664,59. Rutin adalah suatu glikosida yang merupakan hasil kondensasi aglikon quersetin dengan gula rutinosa. Rutin merupakan bioflavonoid kapiler yang dapat berinteraksi dengan beberapa jenis metabolit dan sistem enzim sehingga memberikan efek terhadap sistem vaskular. Rutin juga dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit, seperti hipertensi, pendarahan yang bersifat keturunan seperti

hemofilia, sakit kepala, dan pendarahan gusi. Chen *et al.*, (2013) menyatakan bahwa senyawa rutin (quersetin-3-O-rutinosida) dapat menurunkan kadar asam urat dan kadar serum kreatin pada dosis 25 dan 50 mg/kg, yang dilakukan menggunakan hewan uji tikus yang telah diinduksi oleh kalium oksonat (Chen *et al.*, 2013). Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa rutin dapat menghambat aktivitas xantin oksidase pada dosis 150 dan 300 mg/kg (Huang *et al.*, 2011).

Luteolin-7-glukosida adalah komponen aktif utama luteolin. Senyawa ini memiliki beberapa bioaktif seperti anti-tumor, antioksidan, antiinflamasi, dan perlindungan sistem saraf. Luteolin-7-glukosida merupakan senyawa golongan flavonoid yang termasuk kedalam subkelas flavon (Chen *et al.*, 2018). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Song *et al.*, (2014), menyatakan bahwa luteolin-7-glukosida dapat menghambat aktivitas xantin oksidase dengan nilai IC_{50} sebesar 23,61 μ M yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri pada absorbansi 290 nm (Song *et al.*, 2014).

4. Kesimpulan

Senyawa flavonoid tanaman tapak liman (*E. scaber*) yang berpotensi sebagai antihiperurisemia yaitu senyawa luteolin, luteolin-7-glukosida, quersetin, dan rutin.

Daftar pustaka

- Chen, S., Yang, B., Xu, Y., Rong, Y., & Qiu, Y. (2018). Protection of Luteolin-7-O-glucoside Against Apoptosis Induced by Hypoxia/Reoxygenation through the MAPK Pathways in H9c2 Cells. *Molecular medicine reports*, 17(5), 7156-7162. doi:10.3892/mmr.2018.8774
- Chen, Y. S., Hu, Q. H., Zhang, X., Zhu, Q., & Kong, L. D. (2013). Beneficial Effect of Rutin on Oxonate-induced Hyperuricemia and Renal Dysfunction in Mice. *Pharmacology*, 92(1-2), 75-83. doi:10.1159/000351703
- Dawidowicz, A. L., Bernacik, K., & Typek, R. (2016). Rutin Transformation during Its Analysis Involving Extraction Process for Sample Preparation. *Food Anal Methods*, 9, 213-224. doi: <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0170-2>
- Fitriani, U., Ardiyanto, D., & Mana, T. A. (2017). Evaluasi Keamanan dan Manfaat Ramuan Jamu untuk Hiperurisemia *Buletin Penelitian Kesehatan*, 45(4), 227-232. doi: <https://doi.org/10.22435/bpk.v45i4.6855.227-232>
- Harmanto, N., Nando, A., & Tjahjadi, V. K. (2019). Efek Segera Jamu X terhadap Kadar Asam Urat Darah Relawan Hiperurisemia. *CDK-273*, 46 (2), 87-89. doi: <http://www.cdkjournal.com>
- Huang, J., Wang, S., Zhu, M., Chen, J., & Zhu, X. (2011). Effects of Genistein, Apigenin, Quercetin, Rutin and Astilbin on Serum Uric Acid Levels and Anthine Oxidase Activities in Normal and Hyperuricemic Mice. *Food Chem Toxicol*, 49(9), 1943-1947. doi:10.1016/j.fct.2011.04.029
- Li, F., Jiang, T., Li, Q., & Ling, X. (2017). Camptothecin (CPT) and Its Derivatives are Known to Target Topoisomerase I (Top1) as Their Mechanism of Action: Did We Miss something in CPT Analogue Molecular Targets for Treating Human Disease such As Cancer? *Am J Cancer Res*, 7(12), 2350-2394.
- Lodhi, S., Vadrere, G. P., Patil, K. D., & Patil, T. P. (2020). Protective Effects of Luteolin on Injury Induced Inflammation through Reduction of Uric Acid and Pro-inflammatory Cytokines in Rats. *J Tradit Complement Med*, 10(1), 60-69. doi:10.1016/j.jtcme.2019.02.004

- Musdja, M. Y., Azter, A. A., & Musir, A. (2019). The Effect of Ethanol Extract of *Elephantopus scaber* Linn in Decreasing Blood Uric Acid Levels of Hyperuricemic Male Rats. *European Journal of Medicinal Plants*, 28(4), 1-9. doi:<https://doi.org/10.9734/ejmp/2019/v28i430140>
- Nasution, S. W., Lubis, N., Zentrato, B. C. L., & Silaban, S. R. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Biospecies*, 14(1), 18-23. doi:<https://online-journal.unja.ac.id>
- Perhimpunan Reumatologi Indonesia. (2018). Pedoman Diagnosis dan Pengelolaan Gout. In: Perhimpunan Reumatologi Indonesia.
- Song, H. P., Zhang, H., Fu, Y., Mo, H. Y., Zhang, M., Chen, J., & Li, P. (2014). Screening for Selective Inhibitors of Xanthine Oxidase from Flos *Chrysanthemum* using Ultrafiltration LC-MS Combined with Enzyme Channel Blocking. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 961, 56-61. doi:10.1016/j.jchromb.2014.05.001
- Sutema, I. A. M. P. (2017). Efek Analgesik Kombinasi Ekstrak Herba Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L) dan Rumput Mutiara (*Hedyotis Corymbosa* L) pada Mencit Jantan dengan Metode Pododolorimetri. *Medicamento*, 3(2), 126-130. doi:<https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i2.1036>
- Tsuchida, S. (2002). *Test and Repair of Non-volatile Commodity and Embedded Memories*. Paper presented at the Proceedings. International Test Conference.
- Yan, J., Zhang, G., Hu, Y., & Ma, Y. (2013). Effect of Luteolin on Xanthine Oxidase: Inhibition Kinetics and Interaction Mechanism Merging with Docking Simulation. *Food Chem*, 141(4), 3766-3773. doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.092
- Yuan, M., Liu, Y., Xiao, A., Leng, J., Liao, L., Ma, L., & Liu, L. (2019). The Interaction of Dietary Flavonoids with Xanthine Oxidase: In vitro: Molecular Property-binding Affinity Relationship Aspects. *RSC Advances*, 9(19), 10781-10788. doi:10.1039/C8RA09926J
- Zhang, C., Wang, R., Zhang, G., & Gong, D. (2018). Mechanistic Insights into the Inhibition of Quercetin on Xanthine Oxidase. *Int J Biol Macromol*, 112, 405-412. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.01.190
- Zhao, J., Huang, L., Sun, C., Zhao, D., & Tang, H. (2020). Studies on the Structure-activity Relationship and Interaction Mechanism of Flavonoids and Xanthine Oxidase through Enzyme Kinetics, Spectroscopy Methods and Molecular Simulations. *Food Chem*, 323. doi:10.1016/j.foodchem.2020.126807

Anti-hypercholesterolemic activity of herbal juice with shelf life of 50 and 100 days in male rats induced by PTU and high-fat diet

Aktivitas antihiperkolesterolemia jus herbal masa simpan 50 dan 100 hari pada tikus jantan yang diinduksi PTU dan pakan tinggi lemak

Sari Meisyayati^{1*}, Ade Arinia Rasyad², Frelis Setya Nanda¹, Ayu Lestari¹, Alex Ferianto¹, Rizki Wahyudi¹

¹Program Studi S1 Farmasi, STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang, Indonesia

²Program Studi D3 Farmasi, STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang, Indonesia

*Corresponding author: sari.meisyayati@gmail.com

Abstract

Background: Herbal juice with the composition of rosella flower, garlic, red ginger, dan lime extract, apple cider vinegar and honey has been proven to be effective as an anti-hypercholesterolemia and has a high level of safety through acute and sub chronic toxicity tests that have been carried out. To be marketed, it is also necessary to know how long this herbal juice formula preserve its antihyperlipidemic effect during the storage process.

Objective: This study was aimed to examine the effectiveness of herbal juice stored for 50 days and 100 days in PTU-induced rats and high-fat diet.

Methods: This test used 6 groups of animals consists of group I (Na CMC 0.5%/negative control), group II (fresh herbal juice), group III (herbal juice stored 50 days at room temperature), group IV (herbal juice stored for 50 days at cold temperatures), group V (herbal juice stored for 100 days at room temperature), and group VI (herbal juice stored for 100 days at cold temperatures). The dosage of the test preparation was 5.4 ml/kg given once a day for 10 days. Induction was carried out using PTU ad libitum and high-fat diet twice a day for 10 days. Measurement of serum total cholesterol levels was carried out on day 0 and 11 using the CHOD-PAP method.

Results: Groups II and IV could reduce cholesterol significantly compared to the negative control group ($p < 0.05$), while the other groups could increase blood cholesterol level.

Conclusion: Herbal juice showed effectiveness as anti-hypercholesterolemia in male white rats after being stored for 50 days and 100 days. Shelf life and temperature do not reduce its activity.

Keywords: anti-hypercholesterolemia, herbal juice, shelf life, temperature

Intisari

Latar belakang: Jus herbal dengan komposisi sari bunga rosella, bawang putih, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel dan madu telah terbukti efektif sebagai antihiperkolesterolemia dan memiliki tingkat keamanan yang tinggi melalui uji toksisitas akut dan subkronik yang telah dilakukan. Untuk dapat dipasarkan, perlu pula diketahui seberapa lama formula jus herbal ini mampu mempertahankan efek antihyperlipidemiannya selama proses penyimpanan

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektivitas jus herbal yang disimpan 50 hari dan 100 hari pada tikus yang diinduksi PTU dan pakan tinggi lemak.

Metode: Pengujian ini menggunakan 6 kelompok hewan perlakuan yang terdiri dari kelompok I (NaCMC 0,5%/kontrol negatif), kelompok II (jus herbal segar), kelompok III (jus herbal yang disimpan 50 hari suhu kamar), kelompok IV (jus herbal yang disimpan 50 hari suhu dingin), kelompok V (jus herbal yang disimpan 100 hari suhu kamar), dan kelompok VI (jus herbal yang disimpan 100 hari suhu dingin). Dosis sediaan uji 5,4 ml/kgbb yang diberikan satu kali sehari selama 10 hari. Induksi dilakukan dengan pemberian PTU ad libitum

dan pakan tinggi lemak 2x sehari selama 10 hari. Pengukuran kadar kolesterol total serum dilakukan pada hari ke-0 dan ke-11 dengan metode CHOD-PAP.

Hasil: Kelompok II dan IV dapat menurunkan kolesterol secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$), sementara kelompok lain mengalami peningkatan kadar kolesterol darah.

Kesimpulan: Jus herbal menunjukkan efektivitas sebagai antihiperkolesterolemia pada tikus putih jantan setelah disimpan selama 50 hari dan 100 hari. Masa simpan dan suhu tidak mengurangi aktivitasnya.

Kata kunci : antihiperkolesterolemia, jus herbal, masa simpan, suhu

1. Pendahuluan

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian nomor satu secara global. Ada sekitar 17,9 juta jiwa terenggut akibat penyakit ini. Empat dari lima kematian akibat penyakit kardiovaskular disebabkan karena serangan jantung dan stroke (WHO, 2020). Di Indonesia, menurut laporan Riset Kesehatan Dasar yang dilakukan oleh Balitbangkes pada tahun 2018, terdapat 7,6% dari penduduk Indonesia yang memiliki kadar kolesterol yang tinggi dan 21,2%nya memiliki kadar kolesterol pada ambang batas (Kemenkes, 2019).

Terdapat hubungan yang sangat kuat antara kejadian penyakit kardiovaskular dengan kondisi hiperlipidemia yang dapat berujung dengan kematian (Murphy *et al.*, 2012). Tingginya kadar kolesterol, terutama LDL akan menyebabkan penumpukan di pembuluh darah sehingga terjadi penyempitan serta dinding pembuluh darah menjadi kaku. Hal ini yang menyebabkan penyakit kardiovaskuler, seperti hipertensi, stroke, dan serangan jantung. Oleh karena itu, menjaga kadar lipid darah agar tetap dalam rentang normal merupakan salah satu tindakan yang harus dilakukan.

Pencarian alternatif obat antihiperlipidemia giat dilakukan mengingat efek samping penggunaan obat-obat antihiperlipidemia yang sudah ada. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Upia (2017), Risa (2017), Herpi (2017) serta Hera (2017) diperoleh informasi bahwa terdapat sejumlah formula jus herbal yang mampu menurunkan kadar kolesterol total, darah hewan percobaan. Dari sejumlah formula tersebut terdapat satu formula yang menunjukkan efek antihiperlipidemia terbesar yaitu formula jus herbal yang mengandung sari bunga rosella, bawang putih, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel dan madu. Formula ini juga telah dilakukan uji toksisitas akutnya dan menunjukkan nilai LD_{50} yang berada pada tingkatan toksisitas yang masuk kategori praktis tidak toksik sehingga memiliki nilai keamanan yang tinggi untuk digunakan (Fitriani, 2018). Formula tersebut juga telah diuji toksisitas subkronisnya pada ginjal dan hasilnya tidak terjadi peningkatan kadar kreatinin dan urea (BUN) pada serum tikus dan menunjukkan histopatologi yang normal (Tornado, 2019).

Berdasarkan hasil sejumlah penelitian tersebut maka formula jus herbal tersebut berpotensi untuk dimanfaatkan secara meluas oleh masyarakat dan dapat pula dipasarkan oleh industri rumah

tangga. Untuk dapat dipasarkan secara meluas, perlu pula diketahui seberapa lama formula jus herbal ini mampu mempertahankan efek antihiperlipidemia selama proses penyimpanan sehingga ketika sediaan ini dimanfaatkan oleh masyarakat masih menunjukkan efektifitas sebagai anti hiperlipidemia. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk menguji efektivitas jus herbal yang mengandung sari bunga rosella, bawang putih, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel dan madu dengan masa simpan 50 hari dan 100 hari di suhu ruangan dan suhu lemari pendingin terhadap kolesterol pada tikus jantan yang diinduksi PTU dan pakan tinggi lemak.

2. Metode

2.1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan yakni restrainer tikus, panci kaca (Luminarc®), *slow Juicer EJ-C20Y-RD* (Sharp®), *sentrifuge* (Hettick®), dan *semi auto chemistry analyzer* (SHM Diagnostik®). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yakni bunga rosella, bawang putih, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel (Tahesta®), Madu SNI (Kembang Joyo®), Na CMC(Brataco), PTU, dan pakan tinggi lemak.

2.2. Hewan percobaan

Sebanyak 36 ekor tikus galur Wistar jantan dengan kondisi sehat usia 6-8 minggu dengan bobot 150 g-200 g diambil secara acak dan diaklimatisasi selama 7 hari dengan diberi akses bebas terhadap makanan dan minuman yang cukup. Pada akhir pengujian seluruh hewan dikorbankan menggunakan n-heksan.

2.3. Pembuatan dan penyimpanan jus herbal

Masing-masing bahan herbal, terkecuali cuka apel dan madu, dicuci bersih terlebih dahulu sebelum diambil sarinya menggunakan *slow juicer*. Selanjutnya seluruh sari bahan herbal dimasukkan ke dalam panci kaca sesuai jumlah yang dibutuhkan (Tabel 1). Kemudian dilakukan pemanasan selama 5 menit pada suhu 60-70°C untuk selanjutnya dilakukan pendinginan pada suhu kamar. Campuran tersebut kemudian ditambahkan dengan cuka apel dan madu lalu diaduk homogen.

Tabel 1. Formula jus herbal

Komposisi	Jumlah
Sari bunga rosella	20 ml
Sari bawang putih	10 ml
Sari jahe merah	30 ml
Sari jeruk nipis	10 ml
Cuka apel	10 ml
Madu	ad 150 ml

Jus herbal kemudian dimasukkan dalam botol kaca dan ditutup rapat lalu disimpan selama 50 hari dan 100 hari. Tiap masa simpan, jus herbal tersebut disimpan pada 2 suhu yang berbeda yaitu pada suhu kamar (25-30°C) dan suhu lemari pendingin (4-8°C). Pada penelitian ini, dibuat pula jus herbal segar tanpa penyimpanan untuk dilakukan pengujian aktivitas antihiperkolesterolemia.

2.4 Induksi hiperkolesterolemia

Pada penelitian ini, induksi hewan uji agar meningkat kadar kolesterol dalam darah menggunakan propiltiourasil (PTU) dan pakan tinggi lemak. PTU dengan dosis 0,01% b/v diberikan sebagai air minum ad libitum. Pakan tinggi lemak dibuat menggunakan komposisi berupa minyak jelantah: lemak sapi: telur puyuh: Pur 551 dengan perbandingan sebesar 1:1:2:4 yang diberikan 30 g/hari. PTU dan pakan tinggi lemak diberikan 2 kali dalam sehari selama 10 hari bersamaan dengan perlakuan.

2.5 Uji aktivitas antihiperkolesterolemia

Penelitian ini menggunakan hewan percobaan sebanyak 36 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Kelompok I kontrol negatif (NaCMC 0,5%), kelompok II diberikan jus herbal yang baru dibuat (segar), kelompok III diberikan jus herbal yang sudah disimpan setelah 50 hari pada suhu ruang, kelompok IV diberikan jus herbal dengan masa simpan 50 hari pada suhu dingin, kelompok V diberikan jus herbal masa simpan 100 hari pada suhu ruang, dan kelompok VI diberikan jus herbal dengan masa simpan 100 hari pada suhu dingin. Dosis jus herbal yang diberikan sama, yakni 5,4 ml/kgbb. Semua kelompok diinduksi dengan PTU dan pakan tinggi lemak.

Pengukuran kadar kolesterol total dilakukan pada hari ke-0 sebelum perlakuan dan pada hari ke-11 dengan menggunakan sampel darah tikus yang diambil melalui vena lateral ekor. Pemeriksaan kadar kolesterol total menggunakan metode *cholesterol oxidase-peroxidase aminoantypirin* (CHOD-PAP).

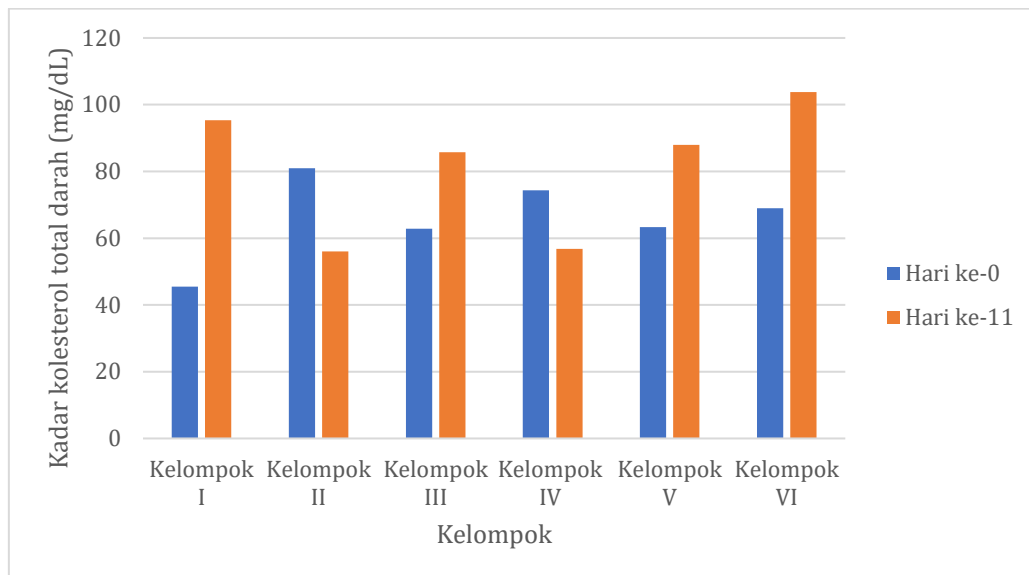
2.6 Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan Anova satu arah dan dilanjutkan dengan uji *Duncan* dengan taraf kepercayaan 95%.

3. Hasil dan pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian efektivitas antihiperkolesterolemia jus herbal yang mengandung sari bunga rosella, rimpang jahe merah, umbi bawang putih, jeruk nipis, cuka apel dan madu yang disimpan selama 50 dan 100 hari pada suhu kamar suhu dingin terhadap tikus putih jantan galur Wistar. Efektivitas tersebut didukung oleh adanya aktivitas antihiperlipidemia dari

masing-masing komponen yang telah dibuktikan dari sejumlah penelitian. Bawang putih diketahui mampu menghambat enzim *squalene monoxygenase* dan *HMG-CoA reductase* (Gebhardt, 1993). Kelopak bunga rosella mampu menurunkan trigliserida serum pasien yang mengalami sindrom metabolik (Asgary *et al.*, 2016). Pada penelitian yang dilakukan oleh Safitri, dkk (2016) diketahui profil lipid serum tikus percobaan yang diberikan ekstrak jahe merah mengalami perbaikan. Begitu pula dengan jeruk nipis yang diketahui mampu menurunkan kolesterol total serum kelinci setelah pemberian selama 4 minggu (Khan *et al.*, 2010) dan cuka apel yang juga mampu menurunkan kadar sejumlah lipid darah (Behesti *et al.*, 2012). Dengan mengetahui secara pasti masa dan suhu simpan yang optimal maka informasi tersebut dapat ditetapkan sebagai masa kadaluarsa bagi produk jus herbal yang diteliti ini.



Gambar 1. Rerata kadar kolesterol total darah kelompok perlakuan sebelum dan setelah pemberian sediaan uji

Ket: kelompok I (NaCMC 0,5%), kelompok II (jus herbal segar), kelompok III (jus herbal masa simpan 50 hari suhu kamar), kelompok IV (jus herbal masa simpan 50 hari suhu dingin), kelompok V (jus herbal masa simpan 100 hari suhu kamar), kelompok VI (jus herbal masa simpan 100 hari suhu dingin)

Dari hasil penelitian yang dilakukan, terjadi peningkatan rerata kadar kolesterol hari ke-11 pada kelompok yang hanya diberikan NaCMC 0,5% (Gambar 1). Hal ini membuktikan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol pada tikus percobaan yang diinduksi pakan tinggi lemak dan PTU. Hasil ini sejalan dengan penelitian-penelitian antihiperkolesterolemia yang menggunakan metode induksi yang sama (Probosari *et al.*, 2011; Putu *et al.*, 2010; Safitri *et al.*, 2016).

Peningkatan kadar kolesterol juga terjadi di beberapa kelompok perlakuan lainnya yaitu kelompok III yang diberikan jus herbal dengan masa simpan 50 hari di suhu kamar, kelompok IV yang diberikan jus herbal dengan masa 100 hari pada suhu kamar dan suhu lemari pendingin

(kelompok VI). Berdasarkan hasil analisa statistik *One Way* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Duncan, diketahui ketiga kelompok ini masih menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$), yang artinya masih terdapat aktivitas penghambatan peningkatan kolesterol. Penurunan efektivitas ini dapat disebabkan masih terdapatnya kandungan air sari herbal masing-masing komponen sehingga reaksi penguraian tetap terjadi selama masa simpan. Namun, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar kolesterol hari ke-11 ketiga kelompok tersebut ($p > 0,05$). Hal ini berarti penurunan aktivitas ketiga kelompok perlakuan tersebut masih sebanding.

Kelompok tikus percobaan yang diberi jus herbal yang baru mengalami penurunan kadar kolesterol serta menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Hasil tersebut mungkin disebabkan seluruh bahan herbal yang terdapat di dalam jus herbal berada dalam kondisi segar sehingga kandungan kimia yang ada di dalamnya masih dalam bentuk senyawa kimia asalnya yang menyebabkan efektivitas antihiperkolesterolemia tertinggi.

Penurunan kadar kolesterol juga diperlihatkan oleh pemberian jus herbal dengan masa simpan 50 hari pada suhu dingin (kelompok IV). Hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok II. Hal ini membuktikan bahwa jus herbal yang disimpan selama 50 hari pada suhu dingin ($2-8^{\circ}\text{C}$) mampu mempertahankan keefektifannya sebagai antihiperkolesterolemia. Laju reaksi penguraian berjalan lebih lambat pada suhu dingin karena pemutusan ikatan kimia lebih sulit terjadi di suhu rendah. Ini disebabkan karena pada suhu rendah kecepatan partikel zat untuk bertabrakan lebih rendah. Peningkatan kecepatan reaksi bertambah seiring dengan bertambahnya suhu sesuai dengan hukum Arrhenius dimana molekul yang bereaksi harus memiliki energi yang cukup untuk mengatasi tolakan elektrostatis dan membutuhkan jumlah energi minimal untuk memecah ikatan kimia. Fenomena ini tidak terlihat pada kelompok yang diberikan jus herbal yang disimpan selama 100 hari pada suhu dingin (kelompok VI). Hal tersebut mungkin disebabkan peningkatan laju reaksi tidak hanya dipengaruhi suhu namun juga oleh proses enzimatik dan inaktivasi oleh mikroba (Peleg *et al.*, 2012).

4. Kesimpulan

Jus herbal yang mengandung kombinasi bunga rosella, jahe merah, bawang putih, jeruk nipis, cuka apel dan madu menunjukkan efektivitas sebagai antihiperkolesterolemia pada tikus putih jantan setelah disimpan selama 50 hari dan 100 hari. Masa simpan dan suhu tidak mengurangi aktivitasnya.

Ucapan terimakasih

Penelitian ini dapat terlaksana dengan bantuan hibah penelitian STIFI Bhakti Pertiwi.

Daftar pustaka

- Asgary, S., Soltani, R., Zolghadr, M., Keshvari, M., & Sarrafzadegan, N. (2016). Evaluation of The Effects of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) on Oxidative Stress and Serum Levels of Lipids, Insulin and hs-CRP in Adult Patients with Metabolic Syndrome: A Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Complement Integr Med*, 13(2), 175-180.
- Behesti, Z., Chan, Y. H., Nia, H. S., Hajihoseini, F., Nazari, R., Shaabani, M., & Omran, M. T. S. (2012). Influence of Appel Cider Vinegar on Blood Lipids. *Life Science Journal*, 9(4).
- Fitriani, M. (2018). *TToksisitas Jus Herbal Kombinasi (Bawang Putih, Bunga Rosella, Cuka Apel, Jahe Merah, Jeruk Nipis dan Madu) terhadap Mencit Putih Jantan* (Bachelor). STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang.
- Gebhardt, R. (1993). Multiple Inhibitory Effects of Garlic Extracts on Cholesterol Biosynthesis in Hepatocytes. *Lipids*, 28(7), 613-619.
- Herpi, J. (2017). *Efek Penurunan Kadar Kolesterol Total dan Peningkatan Cita Rasa Modifikasi Jus Herbal Kombinasi Buah Nanas, Bawang Putih, Jahe Merah, Jeruk Nipis, Cuka Apel dan Madu Pada Tikus Hiperkolesterol*. (Bachelor). STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang.
- Juniati, H. (2017). *Efek Penurunan Kadar Kolesterol Total Jus Herbal Modifikasi terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Hiperkolesterol yang Diinduksi Propiltiourasil*. (Bachelor). STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang.
- Kemenkes. (2019). *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Khan, Y., Khan, R., Afroz, S., & Siddiq, A. (2010). Evaluation of Hypolipidemic Effect of Citrus Lemon. *J. basic appl. Sci*, 6, 39-43.
- Murphy, S. L., Xu, J., & Kochanek, K. D. (2012). Deaths: Preliminary data for 2010. *National Vital Statistics Reports*, 6(4).
- Peleg, M., Normand, M. D., & Corradini, M. G. (2012). The Arrhenius Equation Revisited. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(9), 830-851.
- Probosari, E., W, H., & Puruhita, N. (2011). Pemberian Teh Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn), Simvastatin dan Profil Lipid Serta Serum ApoB pada Tikus Hiperkolesterolemia. *Media Medika Indonesia* 45(1), 41-48.
- Putu, N., Chandra, S., & Ayu, D. (2010). Uji Aktivitas Penurunan Kolesterol Produk Madu Herbal yang Beredar di Pasaran pada Tikus Putih Diet Lemak Tinggi. *Jurnal Kimia*, 4 (4), 377-384.
- Risa, M. (2017). *Efek Penurunan Kadar Kolesterol Total Jus Herbal Kombinasi Bawang Putih, Jahe Merah, Jeruk Nipis, Cuka Apel dan Madu terhadap Tikus Putih Hiperkolesterol yang Diinduksi Propil Tiourasil*. (Bachelor). STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang.
- Safitri, D. N. F., Kurniati, S., Adharani, S. W., Suciati, S. W., & Adnyana, I. K. (2016). The Study of Red Ginger Rhizomes Ethanol Extract (*Zingiber officinale* Roscoe var. Sunti Val.) on Hyperlipidemic Induced Rats. *Pharmacology OnLine*, 3, 15-21.
- Tornado, S. (2019). *Uji Toksisitas Subakut Jus Herbal Kombinasi (Bawang Putih, Bunga Rosella, Jahe Merah, Cuka Apel, Jeruk Nipis dan Madu) terhadap Fungsi dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan Galur Wistar*. (Bachelor). STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang.
- Upia, D. (2017). *Efek Penurunan Kadar Kolesterol Total Modifikasi Jus Herbal Kombinasi terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Hiperkolesterol yang Diinduksi Propiltiourasil*. (Bachelor). STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang.
- WHO. (2020). Cardiovascular Disease. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets>

The effect of drug information service using leaflet media and medication reminder chart on adherence and blood pressure of hypertensive patients in primary health care

Pengaruh PIO menggunakan media *leaflet* dan *medication reminder chart* terhadap kepatuhan dan tekanan darah pasien hipertensi di fasilitas pelayanan kesehatan primer

Yopi Rikmasari*

Program Studi S1 Farmasi, STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang, Indonesia

*Corresponding author: mpie030178@gmail.com

Abstract

Background: Treatment adherence is an important factor affecting blood pressure control in hypertensive patients. Intervention in pharmacy service can improve medication adherence and lower blood pressure.

Objective: This study aimed to evaluate the effect of drug information service using leaflet and MRC on the level of patient compliance and lowering blood pressure.

Method: The research design was a quasi-experimental pre- and post-design with control, the intervention group (n=20) and the control group (n=20). The patient adherence was measured using the MGLS questionnaire at the beginning and the end of the study. The intervention performed by distribution drug information leaflet and medication reminder chart (MRC). The differences of adherence pre and post intervention were analyzed using paired t-test, while the differences of adherence and blood pressure between the control and the intervention group were analyzed using the Mann-Whitney test.

Results: The results showed that there was a significant difference of adherence between pre and post intervention ($p < 0.001$). A significant difference also found in the level of adherence between the control group and the intervention group ($p < 0.001$). Whereas the decrease of systolic ($p = 0.396$) and diastolic ($p = 0.564$) blood pressure in intervention group and control group was not different significantly.

Conclusion: Drug information services using leaflet and MRCs affected patient adherence medication, but did not interfere the decrease of systolic and diastolic blood pressure.

Keywords: leaflets, medication reminder chart, adherence, blood pressure

Intisari

Latar belakang: Kepatuhan pengobatan merupakan faktor penting yang mempengaruhi pengendalian tekanan darah pada pasien hipertensi. Intervensi dalam pelayanan kefarmasian diketahui dapat meningkatkan kepatuhan pengobatan dan menurunkan tekanan darah.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh PIO (PIO) menggunakan media *leaflet* disertai pemberian MRC terhadap tingkat kepatuhan pasien dan penurunan tekanan darah.

Metode: Desain penelitian berupa *quasi-experimental* dengan *pre-test* dan *post-test design with control group*. Subjek penelitian pada tiap kelompok intervensi (n=20) dan kelompok kontrol (n=20). Kepatuhan pasien diukur menggunakan kuesioner MGLS pada awal penelitian dan empat minggu setelah intervensi. Uji-t berpasangan digunakan untuk menganalisis perbedaan kepatuhan sebelum dan sesudah intervensi, sedangkan perbedaan kepatuhan dan perubahan tekanan darah antara kelompok intervensi dan kontrol dianalisis dengan uji *mann-whitney*.

Hasil: Hasil penelitian memperlihatkan ada perbedaan kepatuhan yang signifikan antara sebelum dan sesudah mendapatkan intervensi ($p < 0,001$). Selain itu, tingkat kepatuhan minum obat antara kelompok kontrol dan kelompok intervensi juga berbeda signifikan ($p < 0,001$), sedangkan penurunan tekanan darah sistolik ($p = 0,396$) dan tekanan darah diastolik ($p = 0,564$) pada kelompok intervensi dan kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan: PIO menggunakan media *leaflet* disertai pemberian MRC mempengaruhi tingkat kepatuhan minum obat pasien, namun tidak memberikan pengaruh terhadap penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik.

Kata kunci: *leaflet, medication reminder chart, kepatuhan, tekanan darah*

1. Pendahuluan

Prevalensi hipertensi di Indonesia secara nasional terus mengalami kenaikan. Data riset kesehatan dasar memperlihatkan prevalensi hipertensi berdasarkan diagnosis dokter pada tahun 2007 sebanyak 7,2% bertambah menjadi 8,36 % pada tahun 2018 (Kemenkes, 2019a), sedangkan berdasarkan pengukuran tekanan darah sebesar 25,8% pada tahun 2013 menjadi 34,11% tahun 2018. Prevalensi hipertensi di Provinsi Sumatera Selatan, yaitu 30,44 %, sedikit lebih rendah dibandingkan dengan angka nasional (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2019).

Penyakit kardiovaskular, serebrovaskular dan penyakit ginjal teridentifikasi disebabkan karena tekanan darah tidak terkontrol (Dipiro *et al.*, 2017). Faktor yang mempengaruhi terkontrolnya tekanan darah sangat kompleks, suatu *review* melaporkan faktor individu yaitu jenis kelamin, ras/etnik, kepatuhan dan faktor sistem yaitu ketersediaan tempat berobat dan inersia terapi merupakan faktor yang mempengaruhi terkontrolnya tekanan darah (Carey *et al.*, 2018). *World Health Organization* mendefinisikan kepatuhan tidak hanya terbatas pada kebiasaan pasien dalam minum obat, namun termasuk melakukan perubahan gaya hidup sesuai dengan anjuran yang diberikan oleh penyediaan layanan kesehatan (WHO, 2003). Kepatuhan minum obat merupakan perilaku pasien yang menggunakan obat secara terus-menerus atau rutin sesuai rekomendasi dokter (Ho *et al.*, 2009).

Proporsi kepatuhan penduduk dewasa usia ≥ 18 tahun dalam minum obat antihipertensi di Provinsi Sumatera Selatan yaitu rutin minum obat 52,4%, tidak rutin minum obat 33,2 %, dan tidak minum obat 14,3%. Pasien tidak minum obat secara rutin karena beberapa alasan yaitu sudah merasa sehat (54,30%), tidak rutin berobat (43,77 %), minum obat tradisional (21,41%), sering lupa (19,27%), tidak mampu beli obat rutin (13,74%), tidak nyaman terhadap efek samping obat (7,87%), obat tidak tersedia (1,2%) dan alasan lainnya (7,05%) (Kemenkes, 2019b).

Pada saat diketahui tingkat kepatuhan pasien hipertensi buruk, maka perlu dilakukan intervensi untuk meningkatkan dan mempertahankan kepatuhan dalam jangka waktu yang panjang (Burnier & Egan, 2019). Peningkatan kontrol tekanan darah, kepatuhan minum obat antihipertensi, dan pencegahan penyakit kardiovaskuler dapat dilakukan dengan pemberian intervensi dalam bentuk satu atau kombinasi dari beberapa aktivitas, seperti manajemen pengobatan, pemberian edukasi tentang penyakit hipertensi dan gaya hidup, konseling kepatuhan obat, serta pemberian pengingat minum obat. Selain itu, juga dapat dilakukan perbaikan sistem administrasi, kontak pasien

secara personal, pengukuran tekanan darah secara rutin, atau pelatihan tenaga kesehatan (Omboni & Caserini, 2018).

Pelayanan farmasi klinis pada pasien hipertensi dapat dilakukan melalui pengkajian dan pelayanan resep, PIO, konseling, dan pemantauan terapi obat (PTO) (Kemenkes, 2019c). Pemberian informasi obat kepada pasien berpengaruh secara signifikan terhadap kepatuhan pasien hipertensi ($p=0,040$) di Puskesmas Umbulharjo I Yogyakarta. Penelitian lainnya melaporkan terdapat pengaruh yang signifikan PIO terhadap kepatuhan ($p=0,002$) dan penurunan tekanan darah ($p<0,001$) pada pasien PROLANIS (Program Pengelolaan Penyakit Kronis) hipertensi (Idacahyati, 2018). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *pill box* terbukti memperbaiki kepatuhan ($p<0,001$) serta menurunkan tekanan darah *systolic* ($p<0,001$) dan *diastolic* ($p=0,002$) dengan signifikan, sedangkan pemberian kartu pengingat pengobatan hanya efektif terhadap peningkatan kepatuhan ($p<0,001$). Uji coba kombinasi intervensi pelayanan kefarmasian perlu dilakukan untuk meningkatkan kepatuhan minum obat dan mencapai pengendalian tekanan darah pada pasien hipertensi (Sammulia *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini akan dikombinasikan intervensi dengan edukasi melalui PIO menggunakan media *leaflet*, memberikan pengingat minum obat menggunakan MRC dilakukan kontak secara personal oleh mahasiswa farmasi yang telah mendapatkan pelatihan sebelumnya kemudian menganalisis pengaruhnya terhadap kepatuhan dan penurunan tekanan darah pada pasien hipertensi di fasilitas pelayanan kesehatan primer.

2. Metode

2.1. Teknik pengumpulan sampel

Penelitian ini dilakukan pada periode waktu bulan April sampai Mei 2021 di Puskesmas Abab, Kabupaten Penukal Abab Lematang Ilir Provinsi Sumatera Selatan dengan kriteria subjek yaitu pasien dengan diagnosa hipertensi tanpa komplikasi usia ≥ 18 tahun, minimal 3 kali kontrol ke puskesmas, dan belum pernah mendapatkan PIO secara kontak personal serta MRC. Teknik pengambilan sampel menggunakan metode kuota sampling. Jumlah sampel tiap kelompok intervensi dan kontrol pada penelitian eksperimen sederhana adalah antara 10 sampai 20 orang (Sugiyono, 2019). Oleh karena itu, jumlah sampel pada penelitian ini ditetapkan sebanyak 40 orang yang dibagi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol 20 orang dan kelompok intervensi 20 orang. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Palembang dengan Nomor 1226/KEPK/adm2/VI/2021.

2.3. Rancangan penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan rancangan *quasi experimental pre and post design with control*. Data dikumpulkan secara prospektif berupa kepatuhan minum obat dan *outcome* klinis-yang dinilai dari tekanan darah pada subjek penelitian. Pengukuran kepatuhan dan tekanan darah diukur pada awal dan akhir penelitian yaitu pada minggu keempat. Penelitian ini merupakan *pilot study*, sebagai uji coba awal sebelum dilaksanakan pada sampel yang lebih besar. Semua subjek penelitian telah mendapat penjelasan penelitian dan setuju ikut serta dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2.4 Instrumen penelitian

Kepatuhan minum obat dinilai dengan kuesioner MGLS (*Morisky Green Levine Adherence Scale*), terdiri dari 4 item yang telah diuji validitas dan reliabilitas di Indonesia pada pasien diabetes mellitus. Nilai reliabilitas konsistensi internal *cronbach's α* yaitu 0,651 dan reliabilitas *tes-retes* dengan *Spearman's rank correlation* sebesar 0,425 serta validitas konvergen dengan nilai $r = 0,58$ (Kristina *et al.*, 2019). Subjek penelitian diminta untuk mengisi kuesioner dengan memilih jawaban "ya" atau "tidak". Responden mendapatkan skor 1 jika menjawab "ya" dan skor 0 jika menjawab "tidak". Hasil penilaian ditotal dan disimpulkan kepatuhan rendah jika subjek penelitian menjawab "ya" untuk 4 item, kepatuhan sedang jika pasien menjawab "ya" untuk 1 – 3 item dan kepatuhan tinggi jika pasien menjawab "ya" untuk 0 item.

2.5 Bentuk intervensi

Intervensi dilakukan oleh mahasiswa program studi sarjana farmasi semester akhir yang telah dilatih sebelumnya oleh apoteker akademisi dan mempunyai pengalaman melaksanakan pelayanan kefarmasian di sarana pelayanan kefarmasian. Kedua kelompok mendapatkan perlakuan yang sama seperti biasanya oleh petugas ruang obat di puskesmas yaitu mendapatkan informasi mengenai nama obat dan aturan pakai, sedangkan pada kelompok intervensi mendapatkan tambahan PIO menggunakan media *leaflet* dan pemberian MRC. *Leaflet* yang digunakan dibuat oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia agar konten *leaflet* sudah tervalidasi, sedangkan MRC disesuaikan dengan periode pengambilan obat dari subjek penelitian.

2.6. Analisis data

Data karakteristik sosiodemografi, gaya hidup dan penyakit dianalisis secara deskriptif dalam bentuk frekuensi dan persentase. Kelompok intervensi dan kelompok kontrol dibandingkan untuk kesetaraan dalam karakteristik dasar menggunakan *Chi-square* (sebagai alternatif digunakan *uji fisher* atau *Kruskal-wallis*) untuk data kategorik (Still *et al.*, 2020). Uji-t berpasangan digunakan untuk menganalisis perbedaan kepatuhan sebelum dan sesudah intervensi (sebagai alternatif

digunakan uji *mann-whitney*). Perbedaan penurunan tekanan darah dan kepatuhan pada kelompok intervensi dan kontrol dianalisis dengan uji-t tidak berpasangan (sebagai alternatif digunakan uji *wilcoxon*). Proses analisis data menggunakan Software SPSS versi 26.

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian *pilot study*, yang bertujuan menganalisis pengaruh PIO menggunakan media *leaflet* disertai pemberian MRC terhadap tingkat kepatuhan pasien dan penurunan tekanan darah di fasilitas pelayanan kesehatan primer. Jumlah 40 subjek penelitian dibagi sama rata pada kelompok intervensi dan kelompok kontrol. Data karakteristik dasar antara kelompok intervensi dan kelompok kontrol untuk melihat perbedaan karakteristik diantara kedua kelompok tersebut. Hasil uji menunjukkan tidak terdapat perbedaan karakteristik sosiodemografi, gaya hidup dan penyakit pada kedua kelompok tersebut yang meliputi jenis kelamin, usia, pendidikan, pekerjaan, penghasilan, status, BMI (*body mass index*), olahraga, lama sakit dan derajat hipertensi dimana diperoleh nilai *p value* > 0,050. Data sosiodemografi, gaya hidup dan penyakit tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Data sosiodemografi, gaya hidup dan penyakit

Variabel		Kelompok intervensi (n=20)		Kelompok kontrol (n=20)		P-value
		Jumlah	%	Jumlah	%	
Jenis kelamin	Laki - laki	13	65	9	45	0,375 ^a
	Perempuan	7	35	10	55	
Usia (tahun)	< 49	5	25	4	25	0,625 ^a
	50 - 59	4	20	5	20	
	≥ 60	11	55	11	55	
Pendidikan	Tidak sekolah/SD	5	25	7	35	0,126 ^a
	SMP/SMA	14	70	13	65	
	Perguruan tinggi	1	5	-	-	
Pekerjaan	Bekerja	13	65		60	1,000 ^a
	Tidak bekerja	7	35	8	40	
Penghasilan	< 1 juta	9	45	9	45	0,973 ^a
	≥ 1 - 5 juta	7	34	9	45	
	>5 juta	4	20	2	10	
Status	Menikah	15	75	14	70	0,613 ^a
	Tidak menikah	5	25	6	30	
BMI	<i>Underweight</i>	3	15	15	75	0,590 ^a
	Normal	9	45	5	25	
	<i>Overweight</i>	8	40	-	-	
Olahraga	Tidak olahraga	12	60	13	65	0,356 ^a
	Kadang-kadang	8	40	6	30	
	Rutin	-	-	1	5	
Lama sakit	< 1 tahun	2	10	2	10	0,940 ^a
	1 - 5 tahun	15	75	17	85	
	>5 tahun	3	15	1	5	
Derajat hipertensi	<i>Stage 1</i>	12	60	13	65	1,000 ^a

Variabel	Kelompok intervensi (n=20)		Kelompok kontrol (n=20)		P-value
	Jumlah	%	Jumlah	%	
Stage 2	8	40	7	35	

^a Uji statistik chi-square

Pemberian PIO menggunakan media *leaflet* disertai MRC diharapkan dapat memperbaiki kepatuhan pasien dalam minum obat hipertensi. Terdapat peningkatan persentase kepatuhan pada kelompok intervensi yaitu pada kategori kepatuhan tinggi yang awalnya 5% menjadi 30%, kepatuhan sedang dari 25 % menjadi 70 % dan tidak terdapat pasien dengan kepatuhan rendah setelah intervensi. Berbeda dengan kelompok kontrol dimana tidak terdapat kepatuhan tinggi pada akhir penelitian. Perubahan hanya sedikit terjadi pada kepatuhan sedang dari awal penelitian sebanyak 50% menjadi 55% (Tabel 2).

Tabel 2. Tingkat kepatuhan minum obat pada kelompok intervensi dan kelompok kontrol

Kepatuhan		Kelompok intervensi (n=20)		Kelompok kontrol (n=20)	
		Jumlah	%	Jumlah	%
Sebelum intervensi	Tinggi	1	5	-	-
	Sedang	5	25	10	50
	Rendah	14	70	10	50
Setelah intervensi	Tinggi	6	30	-	-
	Sedang	14	70	11	55
	Rendah	-	-	9	45

Tabel 3. Perbedaan kepatuhan minum obat pada kelompok intervensi

	Rata-rata	Selisih	p value
Sebelum intervensi	1,05	2,050	0,000 ^b
Sesudah intervensi	3,10		

^buji-t berpasangan

Hasil analisis dengan uji-t berpasangan memperlihatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,001$ ($p < 0,050$)) pada kepatuhan minum obat sebelum dan sesudah intervensi, seperti yang tercantum dalam Tabel 3. Kepatuhan minum obat pada awal dan akhir penelitian diketahui tidak mengalami perubahan secara signifikan ($p = 0,271$ ($p < 0,050$)). Selanjutnya, hasil uji *wilcoxon* menunjukkan kepatuhan minum obat pada minggu ke-empat antara kelompok intervensi dan kontrol berbeda secara signifikan ($p < 0,001$). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa perubahan tingkat kepatuhan pada kelompok intervensi benar-benar dipengaruhi oleh intervensi yang diberikan berupa PIO menggunakan media *leaflet* dan pemberian MRC.

Selain diharapkan berpengaruh terhadap kepatuhan pasien dalam minum obat, PIO dengan media *leaflet* dan MRC juga diharapkan akan berpengaruh terhadap *outcome* klinis, yaitu dapat menurunkan tekanan darah pasien. Uji *mann-whitney* digunakan untuk menganalisis penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik saat sebelum dan setelah intervensi (Tabel 4).

Pada Tabel 4 menunjukkan tidak ada perbedaan tekanan darah sistolik ($p=0,396$ ($p>0,050$)) dan tekanan darah diastolik ($p= 0,564$ ($p>0,050$)) sebelum dan sesudah intervensi. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa *pill box* dapat memperbaiki kepatuhan ($p<0,001$) dan menurunkan tekanan darah sistolik dan diastolik secara signifikan ($p<0,001$ dan $p=0,002$), sedangkan penggunaan MRC hanya berpengaruh terhadap kepatuhan ($p<0,001$) (Sammulia *et al.*, 2016). Kombinasi PIO menggunakan media *leaflet* dengan MRC belum terbukti dapat menurunkan tekanan darah. Penelitian terdahulu melaporkan hasil yang berbeda, yaitu pemberian PIO pada pasien PROLANIS efektif dalam meningkatkan kepatuhan ($p=0,002$) dan menurunkan tekanan darah diastolik dan sistolik pada pasien hipertensi (Idacahyati, 2018). Perbedaan ini dapat terjadi karena subjek penelitian yang berbeda atau bentuk PIO yang diberikan juga berbeda. Faktor yang berhubungan dengan kepatuhan penggunaan obat di fasilitas pelayanan kesehatan meliputi durasi terapi ($p=0,017$), usia ($p=0,021$), pendidikan ($p=0,034$), dan komorbid ($p=0,036$) dengan nilai *odds ratio* durasi terapi (OR=0,26), usia (OR=5,43), pendidikan (OR=2,14) dan komorbid (OR=6,00). Berdasarkan nilai *odd ratio* tersebut diketahui bahwa kepatuhan dalam pengobatan hipertensi dipengaruhi oleh kondisi komorbid, usia, dan pendidikan (Rikmasari *et al.*, 2020). Penelitian lainnya membuktikan bahwa peningkatan kepatuhan minum obat ($p<0,05$) dan penurunan tekanan darah sistolik ($p<0,05$) dapat dilakukan dengan pemberian *pill card* (Setiani *et al.*, 2021). Hal tersebut berbeda dengan penelitian ini yang belum dapat membuktikan pengaruh PIO dan MRC terhadap pencapaian *outcome* terapi.

Tabel 4. Hasil Uji perbedaan penurunan tekanan darah sebelum dan setelah intervensi

			Kelompok intervensi (n=20)		Kelompok kontrol (n=20)		<i>p value</i>
			Mean±SD	Min - max	Mean±SD	Min - max	
Tekanan darah sistolik (mm/Hg)			9,00±9,119	-10 - 20	7,00±5,712	0 - 20	0,396 ^c
Tekanan darah diastolik (mm/Hg)			2,00±5,231	-10 - 10	3,00±4,702	0 - 10	0,564 ^c

^cMann-whitney

Penurunan tekanan darah diharapkan mencapai target terapi untuk mencegah kejadian penyakit kardiovaskular, serebrovaskular dan gagal ginjal. Menurut JNC VIII, tekanan darah ditargetkan pada pasien usia < 60 tahun yaitu < 140/90 mmHg dan usia ≥ 60 tahun yaitu < 150/90 mmHg serta pada pasien dengan diabetes mellitus dan pasien dengan CKD yaitu < 140/90 mmHg (James *et al.*, 2014). Intervensi yang dilakukan pada penelitian ini belum dapat menurunkan tekanan darah, dengan faktor penyebab yang mungkin yaitu intervensi hanya dilakukan satu kali dengan periode waktu 4 minggu, sehingga selanjutnya perlu dilakukan penelitian dengan frekuensi yang lebih sering dan jangka waktu penilaian yang lebih lama.

Kepatuhan bukan satu – satunya faktor yang mempengaruhi terkontrolnya tekanan darah. Faktor yang telah diidentifikasi menjadi penyebab kegagalan untuk menormalkan tekanan darah, yaitu tidak mempunyai asuransi kesehatan, kurangnya akses ke layanan kesehatan, tidak adanya tempat pelayanan kesehatan untuk kontrol rutin, kegagalan untuk diagnosis hipertensi (kegagalan untuk menilai tekanan darah tinggi yang tidak menampakkan gejala, pengukuran tekanan darah tidak akurat, gagal mengenali penyakit hipertensi). Selain itu juga dapat disebabkan oleh inersia terapi dari klinisi, inadekuat edukasi pasien, tidak adanya pengambilan keputusan bersama, rekomendasi gaya hidup dan konseling inadekuat, kepatuhan rendah terhadap modifikasi gaya hidup dan atau kepatuhan terhadap obat antihipertensi yang diresepkan, tidak ada pemantauan dan pelaporan tekanan darah dari rumah, rendahnya kesadaran pasien dan/atau penyedia pelayanan kesehatan akan target tekanan darah serta tidak adanya *follow up* yang sistematis. Untuk mengatasi tekanan darah tidak terkontrol diperlukan suatu intervensi dengan strategi berbasis populasi yang sesuai dengan fokus memastikan pasien memiliki tempat perawatan kesehatan untuk pemeriksaan rutin, mengoptimalkan kepatuhan, dan meminimalkan inersia terapi yang terkait dengan kontrol tekanan darah tinggi (Carey *et al.*, 2018).

Intervensi untuk meningkatkan kepatuhan pengobatan pada pasien hipertensi dapat dilakukan di tingkat dokter, pasien, terapi obat, dan sistem perawatan kesehatan (Burnier & Egan, 2019). Beberapa hal yang dapat dilakukan antara lain kolaborasi dokter dengan perawat dan apoteker, manajemen diri dengan sistem yang sederhana, penggunaan pengingat, adanya sesi kelompok, instruksi yang dikombinasikan dengan strategi motivasi, dukungan sistem kesehatan terhadap pemantauan dan secara finansial mendukung kolaborasi antara penyedia layanan kesehatan (perawat dan apoteker) (Williams *et al.*, 2018). Intervensi apoteker berkolaborasi dengan dokter dalam banyak penelitian dilaporkan dapat meningkatkan kontrol tekanan darah dan hemat biaya (Rikmasari *et al.*, 2021).

Keterbatasan dalam penelitian ini yaitu terdapat kemungkinan bias hasil mengingat subjek penelitian mengetahui sedang ikut serta dalam penelitian. Selain itu, data tekanan darah diperoleh berdasarkan data yang tercatat pada rekam medik, sehingga peneliti tidak dapat memastikan prosedur pengukuran tekanan darah telah dilakukan sesuai prosedur dan sama pada semua subjek penelitian. Aktivitas PIO menggunakan media *leaflet* serta MRC berpotensi untuk memperbaiki kepatuhan minum obat, namun belum terbukti dapat menurunkan tekanan darah. Penelitian serupa dengan memodifikasi bentuk pelatihan tenaga farmasi, bentuk PIO, media yang digunakan dan frekuensi intervensi dapat dilakukan. Selain itu dapat dirancang bentuk intervensi lain yang disesuaikan dengan kondisi masyarakat di setiap daerah dengan memperhatikan faktor – faktor yang

mempengaruhi kepatuhan dan pengendalian tekanan darah. Pelayanan kefarmasian di fasilitas pelayanan kesehatan primer dapat berdampak positif terhadap kepatuhan pasien hipertensi dalam minum obat.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara kepatuhan minum obat sebelum dan setelah mendapatkan intervensi ($p < 0,001$). Selain itu juga ada perbedaan ($p < 0,001$) tingkat kepatuhan minum obat antara kelompok kontrol dengan intervensi serta tidak ada perbedaan tekanan darah sistolik dan diastolik sebelum dan sesudah intervensi ($p > 0,050$). Pada penelitian ini disimpulkan PIO menggunakan media *leaflet* dan pemberian MRC pada pasien hipertensi di fasilitas pelayanan kesehatan primer berpengaruh terhadap tingkat kepatuhan minum obat namun tidak memberikan pengaruh terhadap penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik.

Ucapan terimakasih

Terimakasih kepada Puskesmas Abab yang telah memberikan kesempatan melakukan penelitian.

Daftar pustaka

- Badan_Penelitian_dan_Pengembangan_Kesehatan. (2019). *Riskesdas 2018: Laporan Provinsi Sumatera Selatan*. Palembang: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Burnier, M., & Egan, B. M. (2019). Adherence in Hypertension. *Circ Res*, 124(7), 1124-1140. doi:10.1161/circresaha.118.313220
- Carey, R. M., Muntner, P., Bosworth, H. B., & Whelton, P. K. (2018). Prevention and Control of Hypertension: JACC Health Promotion Series. *J Am Coll Cardiol*, 72(11), 1278-1293. doi:10.1016/j.jacc.2018.07.008
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G. L., & Posey, M. (2017). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach* (10 ed.). New York: Mc Graw Hill Education.
- Ho, P. M., Bryson, C. L., & Rumsfeld, J. S. (2009). Medication Adherence: Its Importance in Cardiovascular Outcomes. *Circulation*, 119(23), 3028-3035. doi:10.1161/circulationaha.108.768986
- Idacahyati, K. (2018). Peningkatan Kepatuhan Pasien Hipertensi Dengan Pemberian Informasi Obat. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 17(2), 243. doi:10.36465/jkbth.v17i2.228
- James, P. A., Oparil, S., Carter, B. L., Cushman, W. C., Dennison-Himmelfarb, C., Handler, J., Lackland, D. T., LeFevre, M. L., MacKenzie, T. D., Ogedegbe, O., Smith, S. C., Jr., Svetkey, L. P., Taler, S. J., Townsend, R. R., Wright, J. T., Jr., Narva, A. S., & Ortiz, E. (2014). 2014 Evidence-Based Guideline for The Management of High Blood Pressure In Adults: Report from The Panel Members Appointed to The Eighth Joint National Committee (JNC 8). *Jama*, 311(5), 507-520. doi:10.1001/jama.2013.284427

- Kemenkes. (2019a). Hipertensi Si Pembunuh Senyap Retrieved from <https://pusdatin.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/infodatin-hipertensi-si-pembunuh-senyap.pdf>
- Kemenkes. (2019b). *Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI
- Kemenkes. (2019c). *Pedoman Pelayanan Kefarmasian pada Hipertensi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI Retrieved from 10.1017/CBO9781107415324.004
- Omboni, S., & Caserini, M. (2018). Effectiveness of Pharmacist's Intervention in The Management of Cardiovascular Diseases. *Open Heart*, 5(1), e000687. doi:10.1136/openhrt-2017-000687
- Rikmasari, Y., Kristina, S. A., Andayani, T. M., & Endarti, D. (2021). An Economic Evaluation of Pharmacist Intervention to Improve Blood Pressure Control: A Systematic Review *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(2), 1320-1332.
- Rikmasari, Y., Rendowati, A., & Putri, A. (2020). Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kepatuhan Menggunakan Obat Antihipertensi: Cross Sectional Study di Puskesmas Sosial Palembang. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 87-94.
- Sammulia, S. F., Rahmawati, F., & Andayani, T. M. (2016). Perbandingan Pill Box dan Medication Chart dalam Meningkatkan Kepatuhan dan Outcome Klinik Geriatri Kota Batam. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi (Journal of Management and Pharmacy Practice)*, 6(4), 288-296. doi:10.22146/jmpf.358
- Setiani, L. A., Nurdin, N. M., & Rakasiwi, I. A. (2021). Pengaruh Pemberian Pill Card terhadap Kepatuhan Minum Obat dan Tekanan Darah Pasien Hipertensi di RS PMI Kota Bogor. *Fitofarmaka*, 11(1), 51-66.
- Still, C. H., Margevicius, S., Harwell, C., Huang, M. C., Martin, L., Dang, P. B., & Wright Jnr, J. T. (2020). A Community and Technology-Based Approach for Hypertension Self-Management (COACHMAN) to Improve Blood Pressure Control in African Americans: Results from a Pilot Study. *Patient Prefer Adherence*, 14, 2301-2313. doi:10.2147/ppa.S283086
- Sugiyono. (2019). *Metode Penelitian Kuantitatif* (Setiyawarni Ed.). Bandung: Alfabeta.
- WHO. (2003). Adherence to Long-Term Therapies: Evidence for Action. Retrieved from doi: 10.1177/1049909112449068
- Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D., Coca, A., De Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S., Kreutz, R., Laurent, S., Lip, G. Y. H., McManus, R., Narkiewicz, K., Ruschitzka, F., Schmieder, R., Shlyakhto, E., Tsioufis, K., Aboyans, V., & Desormais, I. (2018). 2018 Practice Guidelines for The Management of Arterial Hypertension of The European Society of Hypertension and the European Society of Cardiology: ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*, 36(12), 2284-2309. doi:10.1097/hjh.0000000000001961

Evaluation of pharmaceutical services, the level of satisfaction and waiting time at Betung City Primary Health Care, Banyuasin Regency

Evaluasi pelayanan kefarmasian dan waktu tunggu serta tingkat kepuasan pasien terhadap pelayanan kefarmasian di Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin

Reza Agung Sriwijaya*

Program Studi S1 Farmasi, STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang, Indonesia

*Corresponding author: agungsrwijayareza@gmail.com

Abstract

Background: Pharmaceutical service have an essential role in the success of patient treatment at primary health care (PHC). Therefore, it is important to evaluate pharmaceutical service including pharmaceutical management, clinical pharmacy service, measure the level of patient satisfaction and prescription waiting time at PHC.

Objective: This study aimed to evaluate the pharmaceutical service standard, the satisfaction level, and waiting time according to Minister of Health Regulation No. 74 /2016 and 129/2008 as a standard.

Method: The research design was cross-sectional with survey and observational method. Data were collected prospectively by distributing valid questionnaire and interview. The number of respondents was 80 patients and one pharmacist technician who was responsible for pharmaceutical services at Betung Kota PHC, Banyuasin Regency. The data obtained were analyzed descriptively.

Result: The result showed that the compliance of pharmaceutical management and clinical pharmacy according to Minister of Health Regulation No. 74/2016 were 88.26% (good) and 26.2% (poor), respectively. Drug information services, monitoring of drug side effect, drug therapy monitoring, and visit had not been carried out. Patient satisfaction toward pharmacy services were very satisfied (81.3%) and the waiting time average was 4 minutes 13 seconds.

Conclusion: Pharmaceutical management was in accordance with Minister of Health Regulation No. 74/2016, whereas clinical pharmacy services were still not meet the standards. Most patients were satisfied toward the pharmaceutical services at Betung Kota PHC and the average waiting time fulfilled the requirement.

Keywords: Primary health care, pharmaceutical service, Minister of Health Regulation

Intisari

Latar belakang: Pelayanan kefarmasian memegang peranan penting dalam keberhasilan pengobatan pasien di puskesmas. Dengan demikian, perlu dilakukan evaluasi pada pengelolaan sediaan farmasi dan pelayanan farmasi klinik serta melihat tingkat kepuasan pasien dan waktu tunggu resep di Puskesmas.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengelolaan pelayanan Bahan Medis Habis Pakai (BMHP), pelayanan farmasi klinik berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) No. 74/2016 dan Keputusan Menteri Kesehatan (Kepmenkes) nomor 129/2008.

Metode: Rancangan penelitian ini adalah potong lintang dengan metode survei dan observasional. Pengumpulan data secara prospektif, dengan pembagian kuesioner yang telah valid dan wawancara. Jumlah responden adalah 80 pasien dan satu tenaga kefarmasian yang bertanggung jawab atas pelayanan kefarmasian di Puskesmas Betung Kabupaten Banyuasin. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan pengelolaan sediaan farmasi dan BMHP di sebesar 88,26% (kategori baik) dan pelayanan farmasi klinik 26,2% (kategori kurang) khususnya kegiatan Pelayanan Informasi Obat (PIO), Monitoring Efek Samping Obat (MESO), dan Pemantauan Terapi Obat (PTO), *visite* belum dilakukan. Pasien sangat puas (81,3%) terhadap pelayanan Puskesmas Betung dan rata-rata waktu tunggu pelayanan resep adalah 4 menit 13 detik sesuai Kepmenkes No. 129/2008.

Kesimpulan: Pelayanan kefarmasian yang telah sesuai dengan Permenkes No.74 Tahun 2016 yaitu tentang Pengelolaan Sediaan Farmasi dan BMHP, sedangkan pelayanan farmasi klinik belum sesuai. Sebagian besar telah merasa puas terhadap pelayanan kefarmasian di Puskemas Betung dan waktu tunggu telah sesuai dengan persyaratan.

Kata kunci: puskesmas, pelayanan kefarmasian, waktu tunggu, kepuasan

1. Pendahuluan

Pelayanan Kefarmasian merupakan pemberian pelayanan secara langsung terhadap pasien yang berhubungan dengan sediaan farmasi. Kegiatan tersebut bertujuan untuk mendapatkan kepastian hasil dan memperbaiki kualitas hidup pasien. Standar pelayanan kefarmasian merupakan acuan yang digunakan untuk melaksanakan kegiatan pelayanan kefarmasian oleh tenaga kefarmasian. Standar tersebut terdiri dari pengelolaan obat dan BMHP serta farmasi klinik (Kemenkes, 2016).

Puskesmas tidak dapat lepas dari peran tenaga kesehatan termasuk tenaga kefarmasian dalam penyelenggaraan pelayanan kesehatan. Tenaga kefarmasian meliputi tenaga teknis kefarmasian dan

apoteker yang bertugas melaksanakan pekerjaan kefarmasian meliputi pelayanan farmasi klinik termasuk pelayanan resep serta pengelolaan sediaan farmasi untuk pengendalian kualitas obat. Pengelolaan obat merupakan kegiatan pemilihan, perencanaan, pengadaan atau permintaan, penerimaan, penyimpanan, distribusi obat, pencatatan dan pelaporan, pengendalian persediaan, serta pemusnahan obat (Kemenkes, 2009).

Waktu tunggu merupakan jarak waktu mulai dari pasien memberikan resep obat ke bagian farmasi hingga pasien mendapatkan obat jadi. Salah satu indikator dalam standar pelayanan minimal di puskesmas adalah waktu tunggu. Sampai saat ini, waktu tunggu masih menjadi masalah pada pelayanan kefarmasian (Wahyuni *et al.*, 2019). Hal ini dapat mempengaruhi tingkat kepuasan pasien terhadap pelayanan kesehatan yang diberikan (Laelyah & Subekti, 2017). Standar minimal waktu tunggu pelayanan resep terdiri dari 2 macam yaitu obat non racikan ≤ 30 menit dan obat racikan ≤ 60 menit (Depkes, 2008).

Penelitian sebelumnya menunjukkan kegiatan pengelolaan sediaan farmasi dan BMHP berjalan dengan cukup baik (rentang penilaian 80%) dan pelayanan farmasi klinik sudah berjalan dengan baik (rentang penilaian 95%) sesuai dengan pedoman pelayanan kefarmasian (Rumengan *et al.*, 2019). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti bermaksud melaksanakan penelitian tentang evaluasi pelayanan kefarmasian, waktu tunggu, dan tingkat kepuasan pasien terhadap pelayanan kefarmasian di Puskesmas Betung Kota.

2. Metode

2.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan *cross-sectional* dengan metode survei dan observasional (Notoatmodjo, 2012). Pengumpulan data kuantitatif dan kualitatif dilakukan dengan wawancara kepada tenaga kesehatan di pelayanan kefarmasian dan penyebaran kuesioner pada pasien di Puskesmas Betung Kota yang dilakukan selama 2 minggu mulai 10 April 2021 hingga 24 April 2021. Penelitian ini telah lolos pengkajian etik penelitian dengan nomor *ethical clearance* No.224KEPK/Adm2/V/2021.

2.2 Subjek penelitian

Subjek penelitian ini ada 2 jenis yaitu satu staf di bagian pelayanan kefarmasian puskesmas dan 80 pasien puskesmas. Kriteria inklusi penelitian meliputi tenaga kefarmasian yang bersedia diwawancara untuk mengisi lembar observasi standar pelayanan kefarmasian dan pasien puskesmas yang membawa resep dokter untuk menebus obat ke apotek puskesmas serta bersedia menjadi responden dengan mengisi *informed consent*. Selanjutnya, kriteria eksklusi yaitu tenaga kefarmasian penanggungjawab ruang pelayanan farmasi yang tidak ada di puskesmas saat pengambilan data penelitian serta pasien tidak menebus resep dokter.

2.3 Instrumen penelitian

Penelitian menggunakan kuesioner yang diambil dari penelitian Wijaya (2012) dan sudah diuji validitas dan reliabilitas. Analisis yang digunakan untuk uji validitas adalah *bivariate pearson*, sedangkan reliabilitas dengan uji *Cronbach's Alpha*. Kuesioner terdiri dari 20 pertanyaan untuk mengukur tingkat kepuasan pasien. Kuesioner kepuasan terdiri dari 5 domain yaitu dimensi *tangible* (bukti fisik), *reliability* (kehandalan), *responsiveness* (ketanggapan), *assurance* (jaminan), dan *empathy* (empati).

Selain itu, peneliti juga menggunakan lembar observasi dari penelitian Musdalipah (2017) untuk evaluasi pelayanan kefarmasian di puskesmas. Pengukuran waktu tunggu resep dokter dilakukan dengan menghitung atau mencatat waktu tunggu pelayanan resep obat non racikan dan

obat racikan dengan menggunakan *stopwatch*. Data waktu tunggu yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan Kepmenkes No. 129/2008 tentang standar pelayanan minimal waktu tunggu yaitu non racikan ≤ 30 menit dan obat racikan yaitu ≤ 60 menit.

2.4 Analisis data

Kuisisioner berisi pernyataan yang mengacu pada Permenkes RI No. 74/2016 dengan tipe jawaban “ya” dan “tidak” berdasarkan skala *Guttman*. Pasien memperoleh skor 1 (satu) jika jawaban “ya” dan 0 (nol) jika jawaban “tidak”. Data skoring yang telah diperoleh, diolah menggunakan *Microsoft Excel*. Tingkat kepuasan pasien dikelompokkan dalam empat kategori yaitu sangat tidak puas, tidak puas, puas, dan sangat puas. Data waktu tunggu yang disajikan dalam nilai rata-tata (*mean*), sedangkan kepuasan dalam bentuk persentase.

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kesesuaian pelayanan kefarmasian di Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin dengan Permenkes No.74 tahun 2016, tingkat kepuasan pasien, dan waktu tunggu pelayanan resep. Hasil penelitian yang dilakukan pada bulan April 2021 sampai Juni 2021 menunjukkan jumlah dokter sudah cukup, namun untuk tenaga kefarmasian masih kurang (Tabel 1).

Tabel 1. Tenaga kesehatan di Puskesmas Betung Kota

Tenaga Kesehatan	Jumlah (orang)	Persentase (%)	Keterangan
Dokter	3	10	Cukup
Apoteker	0	0	Sangat Kurang
TTK	2	7	Kurang
Non TTK	24	83	Berlebih
Total	29	100	

Keterangan:

TTK: Tenaga Teknis Kefarmasian

Tabel 2. Tenaga kefarmasian bekerja di Puskesmas Betung Kota

Tenaga kefarmasian	Jumlah (orang)	Keterangan
Apoteker	0	Tidak sesuai PMK No 74/16
TTK	2	Sesuai PMK No 74/16
Non TTK	3	Tidak sesuai PMK No 74/16
Total	5	

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin belum memiliki apoteker penanggungjawab di ruang farmasi puskesmas dan untuk penanggungjawab ruang farmasi adalah seorang tenaga teknis kefarmasian D3, sedangkan menurut Peraturan Menteri kesehatan No 74/16 pasal 4 mewajibkan adanya apoteker dalam penyelenggaraan kegiatan pelayanan kefarmasian. Penelitian sebelumnya juga menyimpulkan bahwa apoteker mempunyai peran yang krusial karena puskesmas di daerah Pontianak yang mempunyai apoteker memperlihatkan kualitas pelayanan kefarmasian yang lebih baik dibandingkan yang belum ada apoteker (Robiyanto *et al.*, 2019).

Tabel 3. Data pelayanan kefarmasian di Puskesmas Betung Kota

Kegiatan	Kesesuaian (%)	Standar Literatur (%)	Keterangan
Pengelolaan Sediaan Farmasi dan BMHP			
Perencanaan	88,9	81-100	Baik
Permintaan	100	81-100	Baik

Kegiatan	Kesesuaian (%)	Standar Literatur (%)	Keterangan
Penerimaan	100	81-100	Baik
Penyimpanan	85,7	81-100	Baik
Pendistribusian	66,7	61-80	Baik
Pelayanan Farmasi Klinik			
Pengkajian dan Pelayanan Resep	72,2	61-80	Cukup
Pelayanan informasi obat (PIO)	60	20-60	Kurang
Monitoring efek samping obat (MESO)	0	0-20	Sangat Kurang
Pemantauan Terapi Obat (PTO)	0	0-20	Sangat Kurang
Visite	0	0-20	Sangat Kurang

Perencanaan obat yang dilakukan di Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin yaitu kebutuhan obat setiap periode dan dilakukan oleh penanggung jawab instalasi farmasi. Proses seleksi obat berdasarkan pola penggunaan obat sebelumnya, pola penyakit, dan data mutasi obat. Seleksi atau pemilihan obat berpedoman pada Daftar Obat Essensial Nasional (DOEN) serta formularium nasional. Hasil observasi menunjukkan bahwa proses perencanaan obat di Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin masuk dalam kategori baik dengan angka persentase sebesar 88,9%.

Pada saat penerimaan obat oleh tenaga teknis kefarmasian sebagai penanggung jawab, dilakukan pengecekan terhadap kemasan atau peti sesuai LPLPO serta melakukan pengecekan kesesuaian jenis, jumlah obat, dan bentuk obat yang datang dengan LPLPO. Hal ini di dukung oleh pernyataan pada saat wawancara bahwa setelah melakukan permintaan obat maka penanggung jawab akan melakukan penerimaan obat. Pada proses penerimaan penanggung jawab didampingi oleh tenaga teknis kefarmasian lain untuk melakukan pengecekan. Hasil observasi menunjukkan bahwa proses penerimaan obat yang dilakukan di Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin termasuk pada kategori baik dengan angka persentase sebesar 100%, berarti proses penerimaan obat sudah sesuai dengan Permenkes No. 74/2016 (Kemenkes, 2016).

Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin menyimpan obat sesuai dengan alfabetis, bentuk dan jenis sediaan serta sistem FIFO (*first in first out*) dan FEFO (*first expired first out*). Hasil observasi menunjukkan bahwa proses penyimpanan obat yang dilakukan oleh Puskesmas Betung Kota Kabupaten Banyuasin masuk dalam kategori baik dengan angka persentase sebesar 85,7%. Pendistribusian obat kepada pasien di Puskesmas Betung Kota dilakukan sesuai resep yang diterima dan juga penyerahan obat sesuai dengan kebutuhan. Hasil observasi pendistribusian obat menunjukkan persentase sebesar 66,7% yang berarti memiliki kategori cukup.

Pelayanan farmasi klinik di Puskesmas Betung Kota hanya meliputi pengkajian resep dan pelayanan resep (70%) serta PIO (60%) karena tidak adanya apoteker. Kegiatan MESO, PTO, *visite* belum dilakukan, sehingga pelaksanaan pelayanan farmasi klinis masuk kategori kurang sebesar 21,3%. Hal ini menunjukkan peranan apoteker sangat penting dalam pelaksanaan pelayanan kefarmasian khususnya di puskesmas. Akibat tidak adanya apoteker, maka pelayanan kefarmasian juga dibantu oleh bidan, sehingga pelaksanaan PIO di ruang farmasi Puskesmas Betung Kota dapat sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Kemenkes, 2016). Aktivitas MESO, PTO, dan *visite* belum dilakukan di Puskesmas Betung Kota dikarenakan kurangnya sumber daya manusia khususnya peranan apoteker. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya di puskesmas Kota Denpasar dan Magelang bahwa MESO dan *visite* belum berjalan karena kurangnya sumber daya manusia untuk melakukan pemantauan MESO pada pasien yang berobat (Dewi *et al.*, 2020; Dianita *et al.*, 2017).

Tabel 4. Data pelayanan kefarmasian di Puskesmas Betung Kota

Jenis resep	Rata-rata waktu tunggu (menit)	Menurut Kepmenkes No.129 tahun 2008	Keterangan
Non racikan	4 menit 13 detik	≤ 30 menit	Sesuai
Racikan	-	≤ 60 menit	-

Kepuasan pasien terhadap pelayanan Puskesmas Betung Kota termasuk kategori puas (76,45%) pada dimensi *tangible* (bukti fisik), sedangkan pada dimensi *reliability* (kehandalan) pasien merasa sangat puas (85,12%). Kepuasan tersebut menunjukkan bahwa tenaga kefarmasian telah melaksanakan tugasnya dengan baik. Sebagian besar responden juga telah sangat puas pada dimensi *responsiveness* (ketanggapan) dan *assurance* (jaminan) dengan persentase 86,25% dan 87,75%. Hal ini menunjukkan bahwa tenaga kefarmasian menanggapi keluhan atau pertanyaan pasien dengan cepat. Pada dimensi *empathy* (empati) adalah 71,3% pasien merasa puas.

Pada penelitian waktu tunggu diperoleh 80 resep non racikan dan tidak ada resep racikan karena selama pengambilan data, seluruh pasien yang berobat di Puskesmas Betung Kota merupakan pasien dewasa. Berdasarkan pelayanan 80 resep tersebut, didapatkan nilai rata-rata waktu tunggu non racikan selama 4 menit 13 detik. Hasil tersebut serupa dengan penelitian terdahulu di Puskesmas Sungai Rangit dan Puskesmas Natai Pelingkau yaitu tingkat kepuasan pada dimensi kehandalan sebesar 78% , dimensi jaminan untuk Puskesmas Sungai Rangit (86%) dan Puskesmas Natai Pelingkau (85%). Selanjutnya pada dimensi *empathy* dan *tangible* untuk kedua Puskesmas yaitu 82% dan 83%, serta rata-rata waktu tunggu pada kedua puskesmas selama 6 menit untuk resep non racikan (Chabib *et al.*, 2020). Begitu juga penelitian di Puskesmas Kota Denpasar memperoleh rata-rata waktu tunggu resep non racikan selama 4,01 menit (Jaya & Apsari, 2018). Hasil tersebut telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan dalam Kepmenkes No. 129 tahun 2008, antara lain waktu tunggu obat jadi ≤ 30 menit dan obat racikan ≤ 60 menit. Dengan demikian, waktu tunggu seluruh sampel yang diteliti tidak ada yang melebihi batas ketentuan.

4. Kesimpulan

Kesesuaian pelayanan kefarmasian dengan Permenkes No.74/2016 yaitu pengelolaan sediaan farmasi dan BMHP sudah sesuai (88,26%) tetapi pelayanan farmasi klinik belum sesuai sebesar 21,3% (kategori kurang). Pelayanan farmasi klinik yang belum sepenuhnya dilaksanakan adalah PIO sebesar 33,05% dan yang tidak dilaksanakan adalah MESO, PTO dan *visite* sebesar 0%. Sebanyak 81,3% pasien telah merasa puas terhadap pelayanan puskesmas. Nilai rata-rata waktu tunggu telah sesuai dengan Kepmenkes No. 129/2008 yaitu 4 menit 13 detik.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Chabib, R. N., Irawan, Y., & Irawan, A. (2020). Tingkat Kepuasan Pasien terhadap Pelayanan Kefarmasian Sungai Rangit dan Sungai Puskesmas Natai Pelingkau Kabupaten Kota Waringin Barat. *Jurnal Borneo Cendekia*, 4(2), 175-185.
- Depkes. (2008). *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 129/Menkes/SK/IV/2008 tentang Standar Pelayanan Minimal*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dewi, I. G. A. K., Parthasutema, I. A. M., & Putri, B., W. (2020). Gambaran Dan Kajian Penerapan Standar Pelayanan Kefarmasian Di Puskesmas Kota Denpasar Berdasarkan Permenkes Nomor 74 Tahun 2016. *Bali International Scientific Forum (BISF)*, 1(1), 48-56.
- Dianita, P. S., Kusuma, T. M., & Septianingrum, N. M. A. N. (2017). Evaluasi Penerapan Standar Pelayanan Kefarmasian di Puskesmas Kabupaten Magelang berdasarkan Permenkes RI No. 74 Tahun 2016. *URECOL*, 125-134.

- Jaya, M. K. A., & Apsari, D. P. (2018). Gambaran Waktu Tunggu dan Identifikasi Faktor yang Mempengaruhi Lama Waktu Tunggu Pelayanan Obat Atas Resep Dokter di Puskesmas Kota Denpasar. *Medicamento*, 4(2), 94-99. doi:<https://doi.org/10.36733/medicamento.v4i2.861>
- Kemenkes. (2009). *Peraturan Pemerintah Nomor 51 Tahun 2009 tentang Pekerjaan Kefarmasian*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI
- Kemenkes. (2016). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 74 Tahun 2016 tentang Standar Pelayanan Kefarmasian di Puskesmas*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Laeliyah, N., & Subekti, H. (2017). Waktu Tunggu Pelayanan Rawat Jalan dengan Kepuasan Pasien Terhadap Pelayanan di Rawat Jalan RSUD Kabupaten Indramayu. *Jurnal Kesehatan Vokasional*, 1, 102. doi:10.22146/jkesvo.27576
- Musdalipah, M., Saehu, M. S., & Asmiati, A. (2017). Analisis Pelayanan Kefarmasian Di Puskesmas Tosiba Kabupaten Kolaka. *Warta Farmasi*, 6(2), 23-31.
- Notoatmodjo, S. (2012). *Metodologi penelitian kesehatan*. Jakarta: Renika Cipta.
- Robiyanto, R., Aspian, K., & Nurmainah, N. (2019). Keberadaan Tenaga Apoteker dan Evaluasi Pelaksanaan Pelayanan Kefarmasian di Puskesmas Wilayah Kota Pontianak. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6, 121. doi:10.25077/jsfk.6.2.121-128.2019
- Rumengan, T. O. S., Mongi, J., Potalangi, N. O., & Karundeng, E. Z. Z. S. (2019). Analisis Pelayanan Kefarmasian di Puskesmas Desa Langsot Kecamatan Tareran I Kabupaten Minahasa Selatan. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 2(2), 90-95.
- Wahyuni, A., Saputera, M. M. A., Ariani, N., Sari, A. K., & Mawaddah, M. (2019). Hubungan Antara Waktu Tunggu Pelayanan Resep terhadap Tingkat Kepuasan Pasien di Puskesmas Kelayan Dalam *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1), 225-234. doi:<https://doi.org/10.36387/jiis.v4i1.276>
- Wijaya, H. (2012). *Analisis Pelaksanaan Standar Pelayanan Minimal (SPM) Rumah Sakit Bidang Farmasi di Instalasi Farmasi Rumah Sakit Tugu Ibu Tahun 2012*. (Magister). Universitas Indonesia, Jakarta.

Medication profile and potential drug interactions in diabetes mellitus with hypertension outpatient at RSUD dr. H. Andi Abdurrahman Noor

Profil pengobatan dan potensi interaksi obat pada pasien diabetes melitus komplikasi hipertensi di RSUD dr. H. Andi Abdurrahman Noor

Sinta Rachmawati*, Fania Pratiwi, Ika Norcahyanti

Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Indonesia

*Corresponding author: sinta.rachmawati@unej.ac.id

Abstract

Background: Diabetes mellitus is a metabolic disease, characterized by hyperglycemia. It occurs due to impaired insulin secretion, insulin action, or both. Diabetes mellitus is a chronic disease that is often accompanied by complications, one of which is hypertension, so that drug interactions cannot be avoided.

Objective: This study aimed to determine the medication profile and potential drug interactions in diabetes mellitus outpatient with hypertension at RSUD dr. H. Andi Abdurrahman Noor.

Method: It was a descriptive study. The data was obtained from diabetes with hypertension outpatient in three months (October-December 2020). To analyze potential drug interaction, used drugs.com, Medscape and Stockley for literature.

Results: The medication profile showed that insulin aspart (43.84%) and the combination of candesartan and amlodipine (52.05%) were the most used drugs. The most common potential drug interactions were found between insulin and candesartan (73.34%) with moderate severity.

Conclusion: Insulin aspart was the most used of antidiabetic. Candesartan plus amlodipine was the most widely used antihypertensive. Both types of drugs (insulin and candesartan) have the potential for drug interactions.

Keywords: antidiabetic, antihypertensive, drug interaction

Intisari

Latar belakang: Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan adanya gangguan sekresi insulin, kerja insulin, ataupun keduanya. Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang sering disertai komplikasi, salah satunya hipertensi, sehingga kejadian interaksi obat tidak dapat dielakkan.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil pengobatan dan potensi interaksi obat pada pasien rawat jalan yang didiagnosis diabetes melitus komplikasi hipertensi di RSUD dr. H. Andi Abdurrahman Noor.

Metode: Penelitian ini bersifat deskriptif. Data diperoleh dari lembar resep pasien rawat jalan yang didiagnosis diabetes dengan komplikasi hipertensi selama 3 bulan (Oktober-Desember 2020). Analisis potensi interaksi obat menggunakan sumber drugs.com, Medscape dan Stockley sebagai rujukan.

Hasil: Profil pengobatan menunjukkan insulin aspart (43,84%) serta kombinasi kandesartan dan amlodipin (52,05%) merupakan obat-obatan yang paling banyak digunakan. Potensi interaksi obat yang paling banyak ditemukan terjadi antara insulin dengan kandesartan sebesar 73,34% dengan tingkat keparahan sedang.

Kesimpulan: Insulin aspart adalah antidiabetes yang paling banyak digunakan, sedangkan kandesartan yang dikombinasi dengan amlodipin merupakan antihipertensi yang paling banyak digunakan. Kedua jenis obat tersebut (insulin dan kandesartan) memiliki potensi interaksi obat.

Kata kunci : antidiabetes, antihipertensi, interaksi obat

1. Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) atau yang biasanya dikenal dengan kencing manis adalah salah satu dari penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar gula di dalam darah. Penyakit ini disebabkan adanya gangguan sekresi insulin, kerja insulin, ataupun keduanya. DM dapat dibagi menjadi empat kategori yaitu tipe 1, tipe 2, tipe spesifik lain serta DM gestasional. *International Diabetes Foundation* (IDF) pada tahun 2019 menyatakan Indonesia menempati 10 besar negara yang memiliki populasi penderita diabetes melitus tertinggi di dunia, yakni peringkat ke 7 dengan kisaran angka 10,7 juta jiwa (IDF, 2019). Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) 2018 menggambarkan peningkatan yang signifikan pada prevalensi penderita diabetes melitus di Indonesia, dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 8,5% pada tahun 2018 (Kemenkes, 2018). Data Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Selatan juga menunjukkan bahwa pada tahun 2019 terdapat peningkatan angka penderita diabetes melitus sebanyak 71% atau setara dengan 736 orang di Kabupaten Tanah Bumbu dimana pada tahun sebelumnya angka tersebut masih berada pada total 430 jiwa penderita (Dinkes Kalsel, 2020).

Penyakit DM merupakan suatu penyakit kronis yang sering diiringi dengan komplikasi dan membutuhkan perawatan medis yang berkelanjutan (ADA, 2020). Menurut *American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the Management of Diabetes Mellitus*, salah satu risiko yang serius dalam komplikasi diabetes melitus adalah hipertensi (Rodbard *et al.*, 2007). Tingginya kadar gula di dalam darah akan menyebabkan penempelan gula di dinding pembuluh darah dan terjadilah proses oksidasi. Pada proses ini, gula akan berikatan dengan protein yang ada di dinding pembuluh darah untuk membentuk *advanced glycosylated endproducts* (AGEs). Adanya AGEs inilah yang dapat merusak dinding pembuluh darah bagian dalam, dan dapat menarik lemak yang jenuh atau kolesterol. Kolesterol yang menempel pada dinding pembuluh darah menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi, sehingga leukosit dan trombosit serta sel mediator inflamasi lain menuju tempat inflamasi. Sel-sel tersebut menyatu menjadi suatu plak yang menjadikan dinding pembuluh darah keras, kaku dan akhirnya terjadi penyempitan sehingga menyebabkan perubahan tekanan darah (Setiyorini *et al.*, 2018).

Baik hipertensi maupun diabetes melitus merupakan masalah yang perlu mendapat perhatian karena tingginya angka penderitanya, terlebih jika terjadi komplikasi keduanya. Oleh karena itu, penanganan yang tepat merupakan salah satu hal yang dapat diupayakan, salah satunya dengan terapi obat yang tepat guna mengurangi morbiditas, mortalitas dan biaya (Ernst & Grizzle,

2001). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil pengobatan dan potensi interaksi obat pada pasien diabetes mellitus komplikasi hipertensi di RSUD dr. H. Andi Abdurrahman Noor. Rumah sakit ini termasuk salah satu tempat rujukan pasien yang berdomisili di Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan.

2. Metode

Penelitian ini bersifat deskriptif dan dilakukan secara retrospektif di Instalasi Farmasi Rawat Jalan RSUD dr. H. Andi Abdurrahman Noor. Pengambilan data dilakukan dengan menggunakan lembar resep Surat Eligibilitas Pasien (SEP) pasien Badan Penyelenggaraan Jaminan Sosial (BPJS) dengan diagnosis diabetes melitus komplikasi hipertensi selama periode Oktober-Desember 2020. Sebanyak 73 pasien yang memenuhi kriteria inklusi. Selanjutnya ditelaah obat-obatan yang digunakan pasien, serta potensi interaksi yang terjadi. Website drugs.com, Medscape dan Stockley digunakan sebagai rujukan untuk menganalisis potensi interaksi obat.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Karakteristik pasien

Karakteristik pasien dikategorikan berdasarkan jenis kelamin, usia, dan penyakit penyerta. Data karakteristik pasien dapat dilihat pada Tabel 1. Pada penelitian ini, ditemukan lebih banyak pasien laki-laki dari pada perempuan. Berdasarkan data hasil Riset Kesehatan Dasar 2018, perempuan mempunyai prevalensi lebih besar mengidap diabetes melitus (12,7%) jika dibandingkan dengan laki-laki yaitu 10,6% (Kemenkes, 2018). Perempuan lebih berisiko untuk mengidap penyakit diabetes melitus akibat sistem hormonal (menstruasi dan menopause) yang membuat lemak di tubuh lebih mudah terakumulasi (Irawan, 2010). Perbedaan hasil pada distribusi jenis kelamin dimungkinkan karena waktu studi yang pendek.

Tabel 1. Karakteristik pasien

Karakteristik pasien	Jumlah	Persentase (%)
Jenis kelamin		
Laki-laki	40	54,79
Perempuan	33	45,21
Usia		
18-24	1	1,37
25-34	1	1,37
35-44	10	13,70
45-54	17	23,29
55-64	26	35,62
65-74	18	24,65

Penyakit penyerta lain (selain diabetes melitus komplikasi hipertensi)		
Tanpa penyakit penyerta	46	63,01
1 Penyakit Penyerta	23	31,51
2 Penyakit Penyerta	4	5,48

Usia terbanyak ada pada rentang 55-64 sebanyak 26 Kasus (35,62%). Semakin tua usia seseorang maka akan semakin besar kejadian DM tipe 2. Hal ini disebabkan karena adanya penurunan semua sistem dalam tubuh seiring dengan pertambahan usia seseorang, termasuk sistem endokrin, yang biasanya terjadi resistensi insulin (Isnaini & Ratnasari, 2018). Selain itu, angka harapan hidup Kabupaten Tanah Bumbu adalah 70,08 tahun sehingga banyak ditemui pasien yang berusia lanjut (BPS Kalsel, 2020).

3.2 Penyakit penyerta

Terdapat 12 penyakit penyerta komplikasi DM selain hipertensi. Data tersebut dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan karakteristik penyakit penyerta pada penelitian ini terbanyak adalah *coronary artery disease*, *dyspepsia syndrome*, dan hiperkolesterolemia. *Coronary artery disease* (CAD) disebut juga sebagai jantung koroner. Dalam sistem pembuluh darah, arteri koroner bertugas membawa darah ke jantung. Jika terjadi penyempitan atau penyumbatan di area ini, maka seseorang dapat menderita penyakit arteri koroner (Hanson *et al.*, 2013). Faktor risiko penyakit ini diantaranya yakni hipertensi dan DM (Rahmandityo, 2016) (Rahmandityo, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Tomizawa dkk (2015) menyebutkan bahwa DM lebih memperparah penyakit jantung koroner dibandingkan hipertensi.

Tabel 2. Penyakit penyerta

Penyakit penyerta	Jumlah	Persentase (%)
<i>Coronary artery disease</i>	5	16,13
<i>Dyspepsia syndrome</i>	5	16,13
Hiperkolesterolemia	5	16,13
<i>Congestive heart failure</i>	3	9,67
Arthritis	3	9,67
ISPA	3	9,67
<i>Chronic kidney disease</i>	2	6,45
GERD	1	3,23
Kardiomegali	1	3,23
Gout	1	3,23
Gastropati DM	1	3,23
Neuropati DM	1	3,23

ISPA: infeksi saluran pernapasan atas; GERD: *gastroesophageal reflux disease*

Dyspepsia syndrome merupakan rasa tidak nyaman pada perut bagian atas (epigastrium). Gejala yang biasanya muncul seperti nyeri dan rasa terbakar pada epigastrium, perut terasa penuh setelah makan, cepat kenyang, rasa kembung, mual, muntah, dan sendawa (Simadibrata *et al.*,

2014). Menurut penelitian Lestari dkk (2019) terdapat hubungan antara kadar *glycosylated hemoglobin* (HbA1c) dengan angka kejadian *dyspepsia syndrome* pada penderita DM tipe 2 sebesar 76,62%.

Penyakit penyerta seperti hiperkolesterolemia dapat disebabkan kondisi DM. Tingginya kadar gula di dalam darah karena tidak dapat terserap semuanya oleh sel-sel tubuh dapat menyebabkan kadar LDL meningkat dan menurunkan kadar HDL (Lestari *et al.*, 2019). Tingginya kadar LDL akan menyebabkan penumpukan kolesterol di pembuluh darah sehingga terjadi penyempitan serta dinding pembuluh darah menjadi kaku. Hal ini yang menyebabkan tekanan darah meningkat (Maryati, 2017).

3.3 Profil pengobatan

Profil pengobatan yang diterima pasien meliputi obat golongan antidiabetes dan antihipertensi. Selain mendapatkan terapi untuk pengobatan diabetes melitus dan hipertensi, pasien juga mendapatkan terapi untuk mengatasi keluhan atau penyakit penyerta yang dialami pasien. Penentuan golongan terapi yang diterima disesuaikan dengan penggolongan terapi pada Pusat Informasi Obat Nasional (BPOM, 2015a).

Tabel 3. Profil pengobatan antidiabetes

Golongan	Nama obat	Jumlah	Persentase (%)
Insulin (<i>rapid-acting</i>)	Insulin aspart	32	43,84
Insulin (<i>rapid-acting</i> + <i>long-acting</i>)	Insulin aspart + detemir	29	39,72
Insulin (<i>long-acting</i>) + biguanid	Detemir + metformin	5	6,85
Biguanid + sulfonilurea	Metformin+ glimepirid	3	4,11
Sulfonilurea	Glimepirid	3	4,11
Biguanid	Metformin	1	1,37
<i>Total</i>		<i>73</i>	<i>100</i>

Pada penelitian ini hanya didapatkan pasien yang memiliki diagnosa DM tipe 2, sedangkan DM tipe 1 tidak ditemukan. Penggunaan insulin aspart tunggal merupakan penggunaan terbanyak sebagai terapi antidiabetes (Tabel 3). Pemberian insulin dari awal terdiagnosis dapat memberikan *clinical outcome* yang dapat dilihat dari perbaikan fungsi sel beta pankreas, pencegah kerusakan pembuluh darah, menghambat proses peradangan, menurunkan kejadian apoptosis, serta memperbaiki profil lipid (Sepmawati, 2016). Pada pasien DM tipe 2, insulin biasanya mulai diberikan ketika pasien mengalami kegagalan dalam penggunaan terapi oral, kontrol kadar glukosa yang buruk (HbA1c >7,5%), kadar glukosa darah saat puasa ≥ 250 mg/dl, riwayat penggunaan terapi oral lebih dari 5 tahun, dan/atau pasien DM lebih dari 10 tahun (Rismayanthi, 2010).

Tabel 4. Profil pengobatan antihipertensi

Golongan	Nama obat	Jumlah	Persentase (%)
ARB + CCB	Kandesartan + amlodipin	38	52,05
ARB	Kandesartan	17	23,29
CCB	Amlodipin	14	19,18
ARB + CCB + Diuretik loop	Kandesartan + amlodipin + furosemid	2	2,74
ARB + Diuretik loop	Kandesartan + furosemid	1	1,37
ARB + CCB 1 + CCB 2	Kandesartan + amlodipin + diltiazem	1	1,37

ARB: *angiotensin receptor blocker*; CCB: *calcium channel blocker*

Pada penelitian ini penggunaan terapi antihipertensi yang paling banyak digunakan adalah kombinasi ARB + CCB berupa kandesartan dan amlodipin (Tabel 4). Tujuan utama terapi hipertensi adalah untuk mencapai dan mempertahankan target tekanan darah sehingga kejadian mortalitas dan morbiditas yang berkaitan dengan kerusakan organ dapat ditekan. Kombinasi antara amlodipin dan kandesartan merupakan kombinasi obat yang tepat karena memiliki mekanisme kerja yang berbeda dalam menurunkan tekanan darah, sehingga bisa meminimalkan terjadinya toksisitas (Darnindro & Muthalib, 2008). Dengan mengkombinasikan antara amlodipin dan kandesartan dapat mencegah terjadinya diabetes nefropati pada pasien DM komplikasi hipertensi (Kalra *et al.*, 2010). Efek samping penggunaan golongan CCB tunggal seperti edema perifer dapat menurun secara signifikan apabila dikombinasikan dengan golongan ARB (Mallat *et al.*, 2013).

3.4 Potensi interaksi obat

Potensi interaksi antara obat golongan antihipertensi, antidiabetes dan obat golongan lain yang diterima pasien dapat dilihat pada Tabel 5. Total pasien yang mengalami interaksi obat sebanyak 73 orang. Satu pasien bisa mengalami lebih dari satu potensi interaksi.

Tabel 5. Potensi interaksi obat

Nama obat		Tingkat keparahan*	Tingkat keparahan**	n	Persentase (%)	Mekanisme interaksi	Solusi
Insulin	Kandesartan	<i>Moderate</i>	<i>Monitor closely</i>	5	73,34	<i>Unknown **</i>	Monitoring gula darah secara rutin
Metformin	Amlodipin	-	<i>Monitor closely</i>	6	8,22	<i>Pharmaco-dynamic**</i>	Monitoring gula darah secara rutin
Amlodipin	Diltiazem	<i>Moderate</i>	<i>Serious-use alternative</i>	1	1,37	<i>Pharmaco-kinetics **</i>	Memberikan jeda waktu dalam penggunaan atau mengganti kombinasi

*Berdasarkan Drugs.com

**Berdasarkan Medscape

Potensi interaksi yang paling tinggi terjadi pada interaksi antara insulin dengan kandesartan yaitu sebanyak 55 kasus dengan tingkat keparahan moderat (Drugs.com, 2021; Medscape, 2021).

Interaksi dapat dikategorikan berdasarkan mekanisme interaksinya yaitu interaksi farmakokinetik dan interaksi farmakodinamik (Baxter, 2010; Drugs.com, 2021; Medscape, 2021).

Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa interaksi terbanyak terjadi pada penggunaan kandesartan dengan insulin baik detemir maupun aspart akan meningkatkan sensitivitas insulin dengan mekanisme interaksi yang tidak diketahui. Jika insulin dan kandesartan digunakan secara bersamaan akan mengakibatkan hipoglikemia. Selain itu, penggunaan amlodipin dengan metformin dapat menurunkan efek kerja dari metformin melalui antagonis farmakodinamik. Maka, perlu dilakukan pemeriksaan gula darah secara rutin terutama pada pasien dengan usia lanjut dan atau gangguan ginjal guna menghindari terjadinya hipoglikemia, atau dengan melakukan penyesuaian dosis insulin jika diduga ada interaksi (Medscape, 2021). Pasien harus diberitahu tentang tanda dan gejala hipoglikemia, seperti jantung berdebar, tremor, lemah lunglai, berkeringat, mual, lapar, pusing, sakit kepala, dan mengantuk, serta cara pengatasannya (Drugs.com, 2021).

Pada penelitian ini terdapat kombinasi obat antara amlodipin dan diltiazem, dimana kedua obat tersebut sama-sama merupakan golongan *calcium channel blocker*. Obat golongan ini dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 (CYP3A4). Kadar obat ini dapat menyebabkan toksisitas jika enzim pemetabolisme dihambat. Diltiazem termasuk substrat dan inhibitor enzim CYP3A4, sehingga diltiazem dapat berinteraksi dengan obat lain yang juga dimetabolisme oleh enzim tersebut. Ketika amlodipin dikombinasikan dengan diltiazem maka diltiazem akan mempengaruhi metabolisme enzim CYP3A4 di hati/usus yang mengakibatkan peningkatan kadar amlodipin sebesar 50% dan disertai peningkatan efek amlodipin (Baxter, 2010; Medscape, 2021).

4. Kesimpulan

Insulin aspart adalah antidiabetes yang paling banyak digunakan, sedangkan kandesartan yang dikombinasi dengan amlodipin merupakan antihipertensi yang paling banyak digunakan. Kedua jenis obat tersebut (insulin dan kandesartan) memiliki potensi interaksi obat.

Daftar pustaka

- American Diabetes Association. (2020). Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 43(2), 514.
- Badan Pusat Statistika Kalsel. (2020). Angka Harapan Hidup. Retrieved from <https://data.kalselprov.go.id/?r=HarapanHidup/index>
- Baxter, K. (2010). *Stockley's Drug Interactions* (9 ed.). China: Pharmaceutical Press.
- BPOM. (2015a). Pusat Informasi Obat Nasional. Retrieved from <http://pionas.pom.go.id/monografi>
- Darnindro, N., & Muthalib, A. (2008). Tatalaksana Hipertensi pada Pasien dengan Sindrom Nefrotik. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 58(2), 57.

- Dinkes Kalsel. (2020). Jumlah Penderita Penyakit Diabetes Mellitus. Retrieved from <https://data.kalselprov.go.id/?r=JmlDiabetesm/index>
- Drugs.com. (2021). Drug Interactions Checker. Retrieved from www.drugs.com/interaction/list/
- Ernst, F. R., & Grizzle, A. J. (2001). Drug-Related Morbidity and Mortality: Updating the Cost-of-Illness Model *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 41(2), 192–199.
- Hanson, M. A., Fareed, M. T., Argenio, S. L., Agunwamba, A. O., & Hanson, T. R. (2013). Coronary Artery Disease. *Prim Care*, 40(1), 1-16.
- International Diabetes Federation. (2019). *IDF Diabetes Atlas* (9 ed.): International Diabetes Federation.
- Irawan, D. (2010). *Prevalensi dan Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe 2 di Daerah Urban Indonesia (Analisa Data Sekunder Riskesdas 2007)*. (Skripsi). Universitas Indonesia, Jakarta.
- Isnaini, N., & Ratnasari, R. (2018). Faktor Risiko Mempengaruhi Kejadian Diabetes Melitus Tipe Dua. *Jurnal Kebidanan dan Keperawatan Aisyiyah*, 14(1), 62–67.
- Kalra, S., Kalra, B., & Agrawal, N. (2010). Combination Therapy in Hypertension: An Update. *Diabetol Metab Syndr*, 2(1), 44. doi:10.1186/1758-5996-2-44
- Kemenkes. (2018). Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2018).
- Lestari, D. P., Uwan, W. B., & Ilmiawan, M. I. a. (2019). Hubungan antara Kadar Glycosylated Hemoglobin (HbA1c) dan Angka Kejadian Sindrom Dispepsia pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Kesehatan Khatulistiwa*, 5(7), 21–23.
- Mallat, S. G., Itani, H. S., & Tanios, B. Y. (2013). Current Perspectives on Combination Therapy in The Management of Hypertension. *Integr Blood Press Control*, 6, 69-78. doi:10.2147/ibpc.S33985
- Maryati, H. (2017). Hubungan Kadar Kolesterol dengan Tekanan Darah Penderita Hipertensi di Dusun Sidomulyo Desa Rejoagung Kecamatan Ploso Kabupaten Jombang. *Jurnal Keperawatan*, 8(2), 128–113.
- Medscape. (2021). Drug Interaction Checker. Retrieved from <https://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>
- Rahmandityo, D. F. (2016). *Hubungan Hipertensi dengan Keparahan Penyakit Jantung Koroner Berdasarkan Sullivan Vessel Score*. (Bachelor). UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Rismayanthi, C. (2010). Terapi Insulin Sebagai Alternatif Pengobatan Bagi Penderita Diabetes. *Medikora*, 6(2). doi:http://dx.doi.org/10.21831/medikora.v0i2.4680
- Rodbard, H. W., Blonde, L., Braithwaite, S. S., Brett, E. M., Cobin, R. H., Handelsman, Y., Hellman, R., Jellinger, P. S., Jovanovic, L. G., Levy, P., Mechanick, J. I., & Zangeneh, F. (2007). American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for The Management of Diabetes Mellitus. *Endocr Pract*, 13 Suppl 1, 1-68.
- Sepmawati, N. D. (2016). *Evaluasi Ketepatan Terapi pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 di Instalasi Rawat Inap RS "A" Periode Januari – Juni 2015*. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Setiyorini, E., Wulandari, N. A., & Efyuwinta, A. (2018). Hubungan Kadar Gula Darah dengan Tekanan Darah pada Lansia Penderita Diabetes Tipe 2. *Jurnal Ners dan Kebidanan (Journal of Ners and Midwifery)*, 5(2), 163-171.
- Simadibrata, M., D, Makmun, M., Abdullah, A. F., Syam, A., Fauzi, K., Renaldi, H., Maulahela, & Utari, A. P. (2014). *Konsensus Nasional Penatalaksanaan Dispepsia dan Infeksi Helicobacter Pylori*. Retrieved from Jakarta:
- Tomizawa, N., Nojo, T., Inoh, S., & Nakamura, S. (2015). Difference of coronary Artery Disease Severity, Extent and Plaque Characteristics Between Patients with Hypertension, Diabetes Mellitus or Dyslipidemia. *Int J Cardiovasc Imaging*, 31(1), 205-212.

Formulation and evaluation of pumpkin fruit (*Cucurbita maxima L.*) emulgel

Formulasi dan evaluasi sediaan emulgel daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima L.*)

Agitya Resti Erwiyani^{1*}, Sri Mustika Ayu¹, Winda Ayu Ningtyas¹, Rissa Laila Vifta¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

*Corresponding author: agityaresti@gmail.com

Abstract

Background: The fruit of pumpkin (*Cucurbita maxima D.*), one of genus *Cucurbita*, family *Cucurbitaceae*, has antioxidant activity due to the content of metabolites including amino acids, fatty acids, α -tocopherol, β -tocopherol, β -carotene, β -cryptoxanthin, and β -sitosterol. The content of carotenoids and tocopherols in pumpkin has antioxidant activity, reduces skin damage due to sun exposure, and can slow down the aging process.

Objective: The study aimed to formulate pumpkin fruit emulgel and evaluate its physical stability during storage

Method: Emulgel contains pumpkin fruit extracts at a concentration of 0,5 – 1,5% w/v. Emulgel evaluations were organoleptic, homogeneity, pH, spreadability, adhesion, and viscosity at 2 - 8°C, room temperature, and 40°C. The stability test observed the physical properties for 28 days.

Results: Pumpkin fruit extracts contain flavonoids based on the TLC test. Emulgel showed organoleptic yellow color with pH in the range of 5, homogeneous, adhesion for more than 1 second, dispersion 5 – 7 cm, and viscosity 2000 – 4000 cP. Storage for 28 days did not show a significant difference at all storage temperatures and centrifugation tests.

Conclusion Pumpkin fruit emulgel is stable at all storage temperatures 2 – 8 °C, 28 ± 2 °C, and 40 ± 2 °C.

Keywords: emulgel, pumpkin, formulation, physical stability

Intisari

Latar belakang: Buah labu kuning (*C. maxima D.*) yang termasuk dalam genus *Cucurbita* famili *Cucurbitaceae* memiliki aktivitas antioksidan karena kandungan metabolit diantaranya asam amino, asam lemak, α -tokoferol, β -tokoferol, β -karoten, β -kriptoxantin, dan β -sitosterol. Kandungan karotenoid dan tokoferol dalam labu kuning memiliki aktivitas antioksidan, menurunkan kerusakan kulit akibat paparan sinar matahari serta dapat memperlambat penuaan dini.

Tujuan: Tujuan penelitian untuk memformulasikan emulgel daging buah labu kuning serta evaluasi stabilitas fisik selama penyimpanan

Metode: Emulgel mengandung ekstrak daging buah labu kuning pada konsentrasi 0,5 – 1,5 % b/v. Evaluasi emulgel meliputi organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas pada 2 - 8°C, suhu kamar dan 40 °C. Uji stabilitas dilakukan dengan pengamatan sifat fisik selama 28 hari.

Hasil: Ekstrak daging buah labu kuning mengandung flavonoid berdasarkan uji KLT. Emulgel menunjukkan organoleptis berwarna kuning dengan pH berkisar 5, homogen, daya lekat lebih dari 1 detik, daya sebar 5 – 7 cm, dan viskositas 2000 – 4000 cP. Penyimpanan selama 28 hari tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada semua suhu penyimpanan dan uji sentrifugasi.

Kesimpulan: Emulgel daging buah labu kuning stabil pada semua suhu penyimpanan yaitu 2 – 8 °C, 28 ± 2 °C dan 40 ± 2 °C.

Kata kunci : emulgel, labu kuning, formulasi, stabilitas fisik

1. Pendahuluan

Labu kuning (*C. maxima* L.) merupakan tanaman yang termasuk dalam keluarga *Cucurbitaceae* yang banyak dimanfaatkan menjadi produk olahan makanan. Labu kuning memiliki kandungan fenolik, tanin, saponin, flavonoid, vitamin C, vitamin A, karbohidrat, protein, serta prekursor Vitamin A yang memiliki banyak manfaat seperti karotenoid dan β -karoten (Muchirah *et al.*, 2018; Nakhon *et al.*, 2017). Pemanfaatan labu kuning telah banyak dilakukan karena mengandung sumber nutrisi baik, memperbaiki masalah pencernaan, dan memiliki peluang tinggi untuk dapat dimanfaatkan sebagai sediaan kosmetik (Indrianingsih *et al.*, 2019).

Labu kuning dilaporkan memiliki manfaat bagi kesehatan salah satunya aktivitas antioksidan karena kandungan antioksidan alami. Daging buah labu kuning mengandung metabolit sekunder yang lebih bervariasi dibandingkan bagian biji. Ekstrak etanol daging labu kuning mengandung fenol $0,277 \pm 0,004$ g/100 g, flavonoid $0,246 \pm 0,013$ g/100 g, tannin $0,01 \pm 0,006$ g/100 g, alkaloid $0,0638 \pm 0,004$ g/100 g dan positif mengandung saponin. Labu kuning pada konsentrasi 10,0 mg/ml menghasilkan aktivitas antioksidan dengan persentase penghambatan sebesar $39,0 \pm 0,301\%$ sehingga labu kuning dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan yang baik (Muchirah *et al.*, 2018). Labu kuning perlu dimanfaatkan menjadi bentuk sediaan kosmetik untuk meningkatkan potensinya. Salah satu bentuk sediaan kosmetik yang dapat dibuat adalah sediaan emulgel.

Emulgel merupakan suatu sistem emulsi dengan penambahan *gelling agent*. Emulsi dapat ditambahkan obat atau bahan aktif yang dilepaskan perlahan dari fase internal menuju ke fase eksternal dan diabsorpsi dengan system pelepasan terkontrol di kulit. Emulgel memiliki karakteristik yang baik seperti mudah diaplikasikan, mudah dicuci, lembut digunakan, kompatibel dengan berbagai eksipien dan dapat larut dalam air (Khan *et al.*, 2020). Pembuatan ekstrak daging buah labu kuning dalam bentuk sediaan emulgel belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi daging buah labu kuning dalam bentuk sediaan emulgel dan dilakukan evaluasi karakteristik fisik selama 4 minggu pada suhu dingin ($2 - 8$ °C), suhu ruang (28 ± 2 °C) dan suhu tinggi (40 ± 2 °C).

2. Metode

2.1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain neraca analitik (Ohaus), alat gelas (Pyrex), *waterbath* (DHH-88), *rotary evaporator* (Biobase), oven (Memmert), blender (Philips),

ayakan 40 mesh, viskometer (Brookfield DV2T), pH meter (Ohaus Starter 300), jangka sorong (Mitutoyo), uji daya lekat, seperangkat alat uji daya sebar, mortar dan stamper.

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain labu kuning yang diperoleh dari Getasan, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah, span 60 (Brataco, kualitas farmasetis), tween 60 (Brataco, kualitas farmasetis), karbomer 940 (Brataco, kualitas farmasetis), minyak zaitun (Brataco, kualitas farmasetis), setil alcohol (Brataco, kualitas farmasetis), trietanolamin (Brataco, kualitas farmasetis), propilen glikol (Brataco, kualitas farmasetis), akuades, metil paraben (Merck), propil paraben (Merck). Bahan untuk identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) antara lain fase diam silica gel GF 254, fase gerak n-butanol: asam asetat: air (3: 1: 1).

2.3. Ekstraksi daging buah labu kuning

Metode maserasi dipilih untuk melakukan ekstraksi daging buah labu kuning dengan etanol 96% (1 : 10). Serbuk daging buah labu kuning ditimbang sebanyak 500 g dan dilakukan maserasi menggunakan 3,75 L etanol 96% selama 3 x 24 jam. Setelah itu, maserat dipisahkan dari ampas dan dilakukan remaserasi dengan 1,25 L etanol 96% selama 2 x 24 jam. Maserat 1 dan 2 dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dilanjutkan dengan pemanasan di atas *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh dilakukan perhitungan rendemen ekstrak.

2.4. Identifikasi kandungan senyawa menggunakan KLT

Identifikasi kandungan metabolit dilakukan menyiapkan fase diam silika gel GF 254 yang diaktifkan sebelum digunakan dengan oven suhu 105°C selama 30 menit. Fase gerak yaitu n-butanol: asam asetat: air (3: 1: 1) dan deteksi dengan penampak bercak uap ammonia. Ekstrak diambil sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam pelarut selanjutnya dilakukan elusi hingga batas atas penandaan. Noda yang terbentuk dilakukan pengamatan pada sinar tampak, UV 254 dan UV 366 nm (Mulangsri & Zulfa, 2020).

2.5. Formulasi emulgel daging buah labu kuning

Pembuatan emulsi primer (m/a) dimulai dengan menyiapkan fase minyak dan fase air. Fase minyak dibuat dengan mencampurkan span 60 dan BHT ke dalam minyak zaitun. Fase air dibuat dengan mencampurkan ekstrak etanol daging buah labu kuning, tween 50, metil paraben dan propil paraben yang sebelumnya dilarutkan dalam propilen glikol. Campuran fase air dimasukkan ke dalam akuades dan dilakukan pengadukan hingga homogen. Selanjutnya, masing-masing fase minyak dan fase air dipanaskan di atas *waterbath* suhu 70°C. Fase minyak ditambahkan sedikit demi sedikit pada fase air dan dilakukan pengadukan hingga suhu ruang dan menghasilkan emulsi yang homogen. Gel dibuat dengan menyiapkan karbomer 940 yang didispersikan ke dalam akuades

selama 24 jam. Gel yang terbentuk ditambahkan trietanolamin untuk meningkatkan pH gel, dilakukan pengadukan hingga homogen. Emulsi m/a didispersikan ke dalam basis gel hingga terbentuk emulgel (Jufri *et al.*, 2018).

Tabel 1. Formula emulgel daging buah labu kuning

Bahan	Basis (%)	Formula 1 (%)	Formula 2 (%)
Ekstrak etanol daging labu kuning	0,00	0,50	1,50
Karbomer 940	2,00	2,00	2,00
Minyak zaitun	5,00	5,00	5,00
Span 60	1,13	1,13	1,13
Tween 60	3,87	3,87	3,87
Propilen glikol	10,00	10,00	10,00
BHT	0,01	0,01	0,01
Metil paraben	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	0,02	0,02	0,02
Trietanolamin	3,00	3,00	3,00
Akuades	ad 100	ad 100	ad 100

2.6. Evaluasi sifat fisik emulgel daging buah labu kuning

Karakteristik fisik sediaan emulgel daging buah labu kuning dilakukan evaluasi dengan parameter organoleptis, uji pH, viskositas, daya lekat dan daya sebar selama 28 hari. Sediaan emulgel disimpan pada 3 variasi suhu yang berbeda untuk mengevaluasi stabilitas emulgel yaitu 2 – 8 °C, 28 ± 2 °C dan 40 ± 2 °C dengan pengamatan organoleptis, pH, viskositas, daya lekat dan daya sebar setiap minggu. Uji mekanik emulgel dilakukan dengan sentrifugasi untuk mengamati stabilitas emulgel.

2.6.1. Pengamatan organoleptis dan uji pH

Warna, bau dan tekstur sediaan emulgel diamati dan dicatat sebagai data organoleptis (Erwiyani *et al.*, 2017). Uji pH dilakukan dengan 1,0 gram emulgel yang dilarutkan dalam akuades 100 mL, kemudian dilakukan pembacaan pH dengan pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan larutan standar. Pengukuran ini dilakukan 3 kali dan dinyatakan sebagai rata – rata pH (Baibhav *et al.*, 2012).

2.6.2. Pengukuran viskositas

Sejumlah 50 g emulgel diukur viskositasnya dengan viskometer Brookfield ukuran *spindle* No. 64 pada kecepatan putaran 100 rpm selama 1 menit. Viskositas ditunjukkan oleh angka yang tertera pada jarum merah pada skala.

2.6.3. Uji daya lekat

Sejumlah 0,5 g emulgel diletakkan pada bagian tengah kedua objek gelas dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kedua ujung objek dikaitkan pada alat. Daya lekat dihitung sebagai waktu yang diperlukan untuk kedua objek gelas terlepas.

2.6.4. Uji daya sebar

Sejumlah 0,5 g emulgel ditempatkan di tengah kaca yang berbentuk bulat, kemudian ditutup kaca dan diberi beban 50 g yang dinaikkan secara bertahap hingga 200 g. Diameter daya sebar diukur setelah diberi beban yang dibiarkan selama 1 menit dengan mengamati diameter pada beberapa sisi (Zulkarya & Hastuti, 2018).

2.6.5. Uji sentrifugasi

Pengujian sentrifugasi dilakukan dengan memasukkan emulgel ke dalam tabung berskala dan dilakukan putaran pada kecepatan 3800 rpm menggunakan ketinggian sediaan 10 cm selama 5 jam. Sediaan yang stabil setelah dilakukan uji sentrifugasi menunjukkan ekivalen terhadap efek gravitasi dan kurang lebih selama satu tahun (Jufri *et al.*, 2018).

2.7 Analisis statistik

Perbedaan stabilitas sediaan yang disimpan pada suhu yang berbeda dibandingkan dengan uji *paired-sample T test*. Hasil dinyatakan berbeda signifikan jika nilai $p < 0,05$.

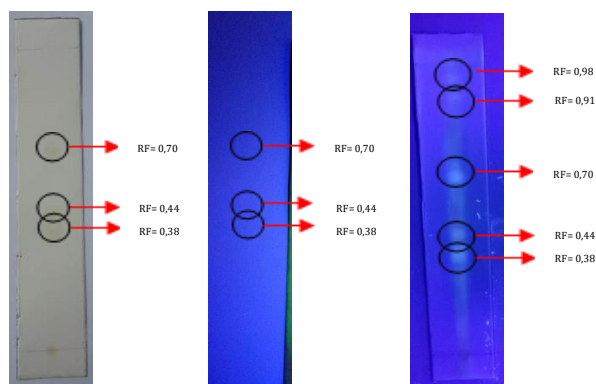
3. Hasil dan pembahasan

3.1. Ekstraksi daging buah labu kuning

Daging buah labu kuning yang diekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan rendemen 28,78% b/b dengan karakteristik ekstrak berwarna coklat kehitaman, berbentuk kental dan bau khas yang manis. Rendemen yang didapatkan lebih dari 10% yang menunjukkan telah memenuhi persyaratan (Sunnah *et al.*, 2019) dan menunjukkan bahwa ekstraksi dengan etanol 96% efektif menarik metabolit sekunder dari labu kuning.

3.2. Identifikasi kandungan senyawa menggunakan KLT

Hasil identifikasi kandungan metabolit sekunder pada ekstrak buah labu kuning menunjukkan positif flavonoid (Gambar 1).



Gambar 1. Identifikasi senyawa flavonoid ekstrak etanol daging buah labu kuning menggunakan sinar tampak (a), sinar UV 254 nm (b) dan sinar UV 366 nm (c)

Menurut Harborne (1996), senyawa flavonoid memiliki Rf pada rentang 0,28 – 0,83. Hasil KLT terlihat noda warna kuning kecoklatan yang terlihat setelah diuapkan dengan amoniak dan berfluoresensi biru pada sinar UV 366.

3.3. Evaluasi sifat fisik emulgel daging buah labu kuning

Evaluasi sediaan emulgel perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh penyimpanan terhadap karakteristik sediaan emulgel. Pengujian parameter emulgel yang dilakukan yaitu organoleptis (warna, bau dan tekstur), pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas. Pengukuran stabilitas sediaan dilakukan dengan mengamati karakteristik setiap minggu dan dibandingkan dengan minggu 0, serta dilakukan uji sentrifugasi untuk melihat pengaruh efek gravitasi sediaan emulgel.

Pengamatan organoleptis emulgel ekstrak menunjukkan sediaan berwarna kuning muda hingga kuning kecoklatan sesuai penambahan ekstrak ke dalam formulasi, sedangkan pada basis terlihat berwarna putih karena tidak mengandung ekstrak. Emulgel pada basis dan emulgel ekstrak berbau minyak zaitun dan berbau labu. Karakteristik bau akan menentukan kualitas formulasi yaitu apabila terbentuk bau yang tidak menyenangkan kemungkinan adanya pertumbuhan bakteri. Bau yang menyenangkan juga mempengaruhi tingkat kesukaan konsumen (Shadab & Shamsi, 2020). Formulasi basis dan emulgel ekstrak daging labu kuning memiliki tekstur lembut dan homogen. Tabel 2 menunjukkan karakteristik fisik emulgel pada penyimpanan suhu 28 ± 2 °C selama 4 minggu. Emulgel tidak mengalami perubahan organoleptis dengan warna, bau dan tekstur yang stabil serta terlihat sediaan yang homogen. Sediaan yang dibuat memenuhi stabilitas sifat fisik untuk memastikan kualitas, efikasi dan keamanan produk. Stabilitas fisik dapat menunjukkan waktu sediaan dapat digunakan pada penyimpanan suhu tertentu (Eff *et al.*, 2019).

Tabel 2. Karakteristik fisik basis dan formula emulgel ekstrak daging labu kuning suhu 28 ± 2 °C

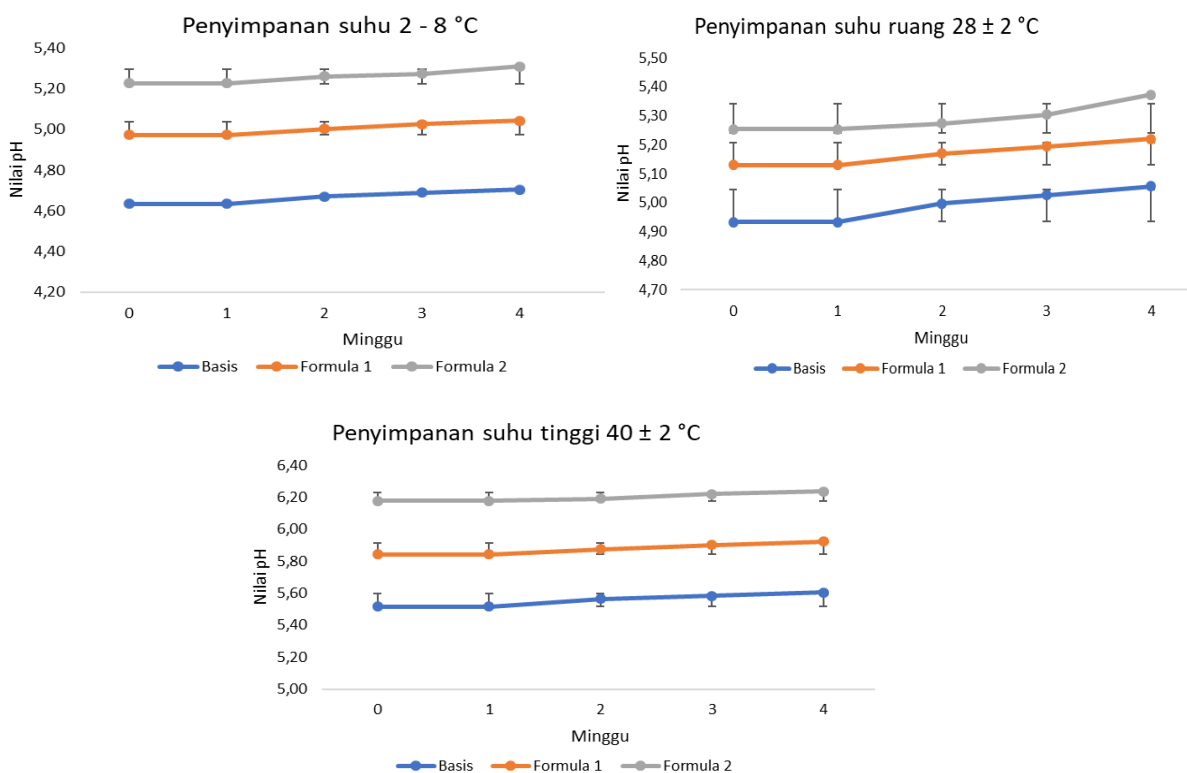
Parameter	Basis					Formula 1					Formula 2				
	M0	M1	M2	M3	M4	M0	M1	M2	M3	M4	M0	M1	M2	M3	M4
Warna	P	P	P	P	P	KM	KM	KM	KM	KM	KC	KC	KC	KC	KC
Bau	BM	BM	BM	BM	BM	BL	BL	BL	BL	BL	BL	BL	BL	BL	BL
Tekstur	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
Homogenitas	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Keterangan: M0 – M1: pengamatan pada minggu ke-0 sampai dengan minggu ke-4; P : putih; KM : kuning muda; KC : kuning kecoklatan; BM : bau minyak zaitun; BL : bau labu; L : lembut; H : homogen

Pengukuran pH menunjukkan formulasi basis dan emulgel ekstrak daging labu kuning berada pada rentang yang memenuhi persyaratan pH yaitu berada pada rentang 4,85 – 6,30. Nilai pH emulgel harus memenuhi persyaratan karena pH rendah dapat menimbulkan iritasi, sedangkan nilai pH yang lebih tinggi dapat mengganggu flora normal kulit (Ambala & Vemula, 2015; Jufri *et al.*, 2018). Formulasi basis memiliki pH yang lebih rendah dibandingkan emulgel ekstrak labu kuning,

hal ini dipengaruhi oleh kandungan ekstrak yang dapat menaikkan pH. Emulgel pada formula 2 menunjukkan nilai pH yang paling tinggi dibandingkan basis dan formula 1 karena mengandung ekstrak lebih banyak. Hal ini sesuai dengan penelitian Mamahit, Datu dan Lengkey (2019), penambahan ekstrak biji labu kuning dalam sediaan salep menghasilkan pH sekitar 6.

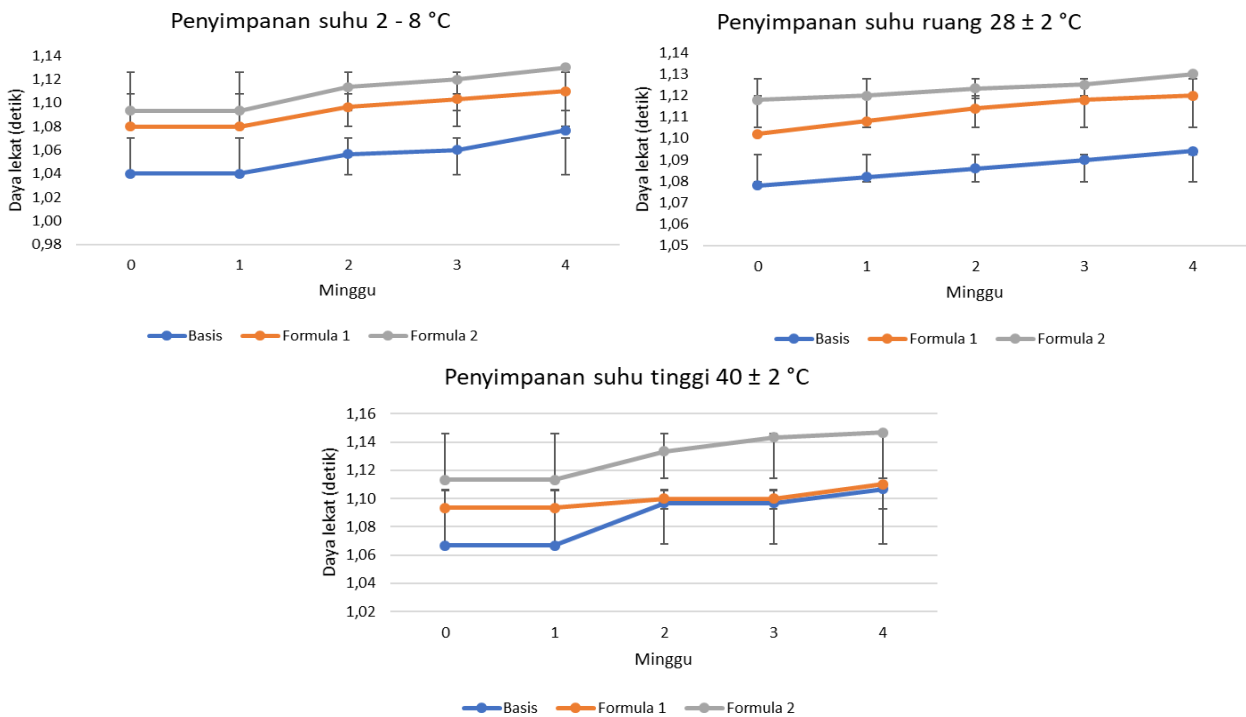
Karakteristik pH pada suhu dingin, ruang dan tinggi selama penyimpanan 4 minggu menunjukkan adanya kenaikan pH terlihat pada formula basis, formula 1 dan 2 (Gambar 2). Perbedaan pH yang terjadi dianalisis menggunakan *paired samples T-test* menunjukkan formula yang disimpan selama 4 minggu pada suhu dingin, ruang dan tinggi diperoleh signifikansi $p > 0,05$ yang artinya berbeda tidak signifikan. Penyimpanan selama 4 minggu pada suhu dingin ($2 - 8 ^\circ\text{C}$), suhu ruang ($28 \pm 2 ^\circ\text{C}$) dan suhu tinggi ($40 \pm 2 ^\circ\text{C}$) menunjukkan sediaan stabil selama penyimpanan.



Gambar 2. Profil pH pada penyimpanan suhu dingin, ruang dan tinggi

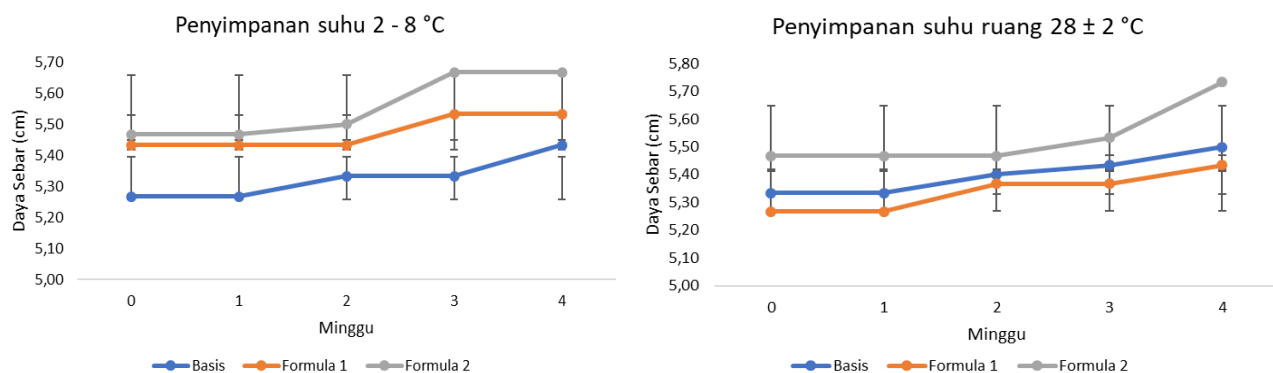
Daya lekat basis dan emulgel daging buah labu kuning menunjukkan hasil lebih dari 1 detik. Daya lekat menunjukkan kemampuan emulgel untuk melekat (Sari *et al.*, 2015). Kemampuan melekat emulgel dipengaruhi oleh konsentrasi *gelling agent* yaitu karbomer. Sifat fleksibilitas dari rantai polimer memiliki kemampuan membentuk ikatan hidrogen dan mempengaruhi tingkat pengembangan polimer sehingga kemampuan melekat formula akan terpengaruh (Varma *et al.*, 2014). Perbedaan konsentrasi *gelling agent* pada formula 1 dan 2 tidak memberikan pengaruh daya

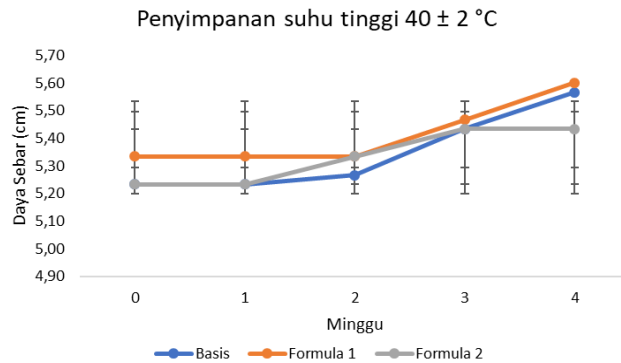
lekat yang signifikan. Berdasarkan analisis menggunakan *paired samples T-test* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan daya lekat ($p > 0,05$) pada formula basis, formula 1 dan 2 yang disimpan selama 4 minggu pada ketiga suhu penyimpanan (Gambar 3).



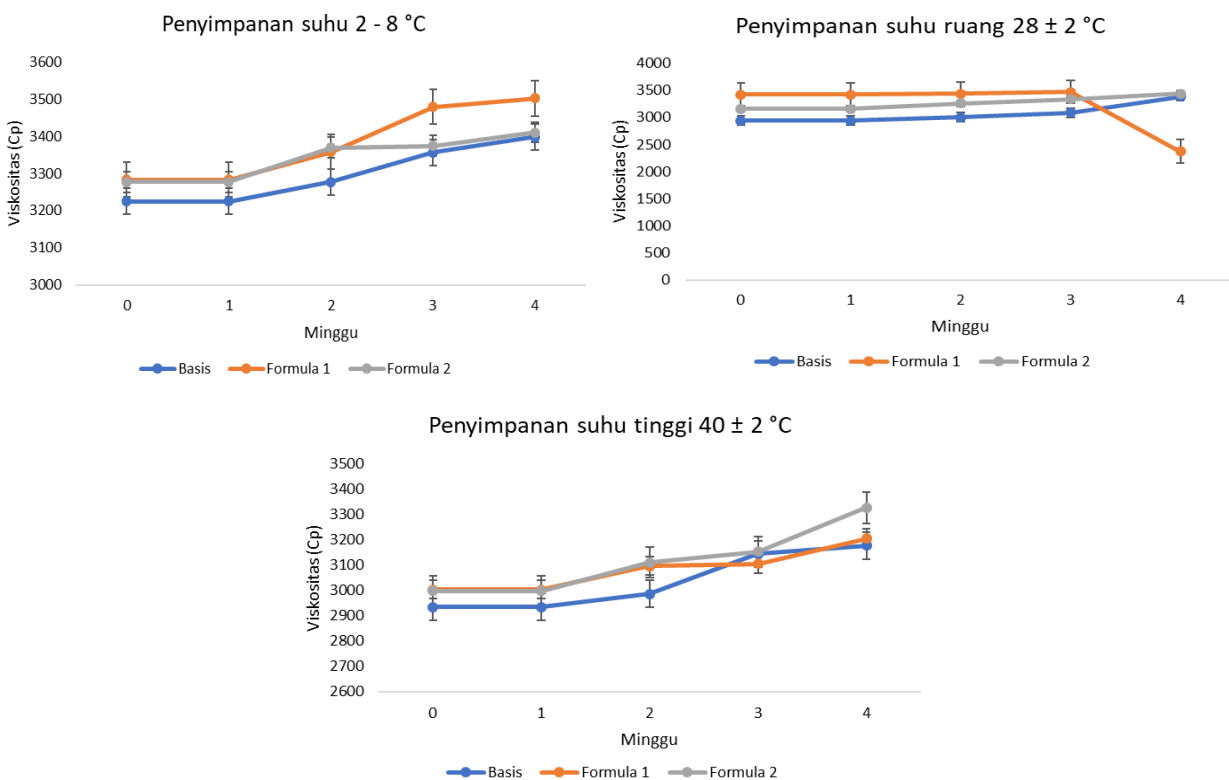
Gambar 3. Profil daya lekat pada penyimpanan suhu dingin, ruang dan tinggi

Daya sebar menggambarkan mudah tidaknya sediaan disebarkan pada permukaan kulit dan keluar dari wadah kemasan. Nilai daya sebar yang semakin tinggi menunjukkan sediaan mudah diaplikasikan pada kulit (Khan *et al.*, 2020). Daya sebar emulgel dan basis menunjukkan rentang 5,2- 5,47 cm. Daya sebar emulgel daging labu kuning (Gambar 4) tidak dipengaruhi oleh ekstrak dan suhu penyimpanan karena perbedaan daya sebar formula tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$).





Gambar 4. Profil daya sebar pada penyimpanan suhu dingin, ruang dan tinggi



Gambar 5. Profil viskositas pada penyimpanan suhu dingin, ruang dan tinggi

Viskositas merupakan parameter yang penting dievaluasi pada sediaan emulgel. Viskositas menggambarkan konsistensi dari sediaan yang akan menentukan pelepasan bahan aktif (Khan *et al.*, 2020). Viskositas dipengaruhi oleh konsentrasi *gelling agent* dalam formulasi dengan konsentrasi yang lebih besar akan menaikkan nilai viskositas. Nilai viskositas emulgel dan basis memenuhi persyaratan karena masuk dalam rentang 2000 – 50,000 cP (Eff *et al.*, 2019). Viskositas sediaan emulgel dan basis menunjukkan nilai yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) sehingga adanya ekstrak tidak memberikan pengaruh terhadap viskositas (Gambar 5).

Sediaan emulgel yang dibuat tidak mengalami pemisahan pada uji sentrifugasi pada kecepatan putaran 3800 rpm selama 30 menit sehingga emulgel yang dibuat stabil. Karbomer mampu menjaga stabilitas emulgel ditunjukkan oleh tidak keluarnya cairan dari sistem atau sineresis. Komposisi emulgator yang digunakan pada sistem emulsi juga mampu membentuk sistem emulsi yang stabil sehingga emulgel tidak mengalami perubahan organoleptis serta parameter sifat fisik pH, daya lekat, daya sebar dan viskositas secara signifikan.

4. Kesimpulan

Ekstrak daging buah labu kuning mengandung metabolit sekunder flavonoid berdasarkan uji KLT. Formulasi emulgel daging buah labu kuning dan basis yang dilakukan penyimpanan pada suhu 2 – 8 °C, suhu 28 ± 2 °C dan suhu 40 ± 2 °C selama 4 minggu menunjukkan karakteristik yang stabil.

Daftar pustaka

- Ambala, R., & Vemula, S. (2015). Formulation and Characterization of Ketoprofen Emulgels. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5, 112-117. doi:10.7324/JAPS.2015.50717
- Baibhav, J., Singh, G., Rana, A. C., & Seema, S. (2012). Development and Characterization of Clarithromycin Emulgel for topical delivery. *International Journal of Drug Development and Research*, 4, 310-323.
- Eff, A., Rahayu, S., Saraswati, H., & Mun'im, A. (2019). Formulation and Evaluation of Sunscreen Gels Containing Mangiferin Isolated from Phaleria macrocarpa Fruits. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 9, 141-145. doi:10.5530/ijpi.2019.3.26
- Erwiyani, A. R., Luhurningtyas, F. P., & Sunnah, I. (2017). Optimasi Formula Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) dan Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn). *Cendekia Journal of Pharmacy*, 1(1). doi:https://doi.org/10.31596/cjp.v1i1.10
- Harborne, J. P. (1996). *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (2 ed.): Institut Teknologi Bandung.
- Indrianingsih, A., Rosyida, V., Apriyana, W., Nur Hayati, S., Nisa, K., Darsih, C., Kusumaningrum, A., Ratih, D., & Indirayati, N. (2019). Comparisons of Antioxidant Activities of Two Varieties of Pumpkin (*Cucurbita moschata* and *Cucurbita maxima*) Extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 251, 012021. doi:10.1088/1755-1315/251/1/012021
- Jufri, M., Rachmadiva, G., M., & Suyono, E. A. (2018). Formulation, Stability Test and In Vitro Penetration Test of Emulgel from Tobacco Leaves Extract. *Journal of Young Pharmacists*, 10(2), s69-s72. doi:https://doi.org/10.5530/jyp.2018.2s.13
- Khan, B. A., Ullah, S., Khan, M. K., Alshahrani, S. M., & Braga, V. A. (2020). Formulation and Evaluation of *Ocimum basilicum*-Based Emulgel for Wound Healing Using Animal Model. *Saudi Pharm J*, 28(12), 1842-1850. doi:10.1016/j.jsps.2020.11.011
- Mamahit, T. H., Datu, O., & Lengkey, Y. K. (2019). Uji Stabilitas Formulasi Sediaan Salep Antibakteri dari Ekstrak Etanol Biji Labu Kuning *Cucurbita moschata* dengan Variasi Basis. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 97-106. Retrieved from <https://journal.fmipaukit.ac.id/index.php/jbt/article/view/50>

- Muchirah, P. N., Rebecca, W., Shadrack, M., Leila, A., Hastings, O., & Anselimo, M. (2018). Characterization and Anti-Oxidant Activity of Cucurbita maxima Duchesne Pulp and Seed Extracts. *The Journal of Phytopharmacology*, 7(2), 134–140.
- Mulangsri, D. A. K., & Zulfa, E. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) dan Identifikasi Flavonoid dengan KLT. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)* 6(1), 55–62. doi:<https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.14044>
- Nakhon, P., Jangchud, K., Jangchud, A., & Prinyawiwatkul, W. (2017). Comparisons of Physicochemical Properties and Antioxidant Activities among Pumpkin (Cucurbita moschata L.) Flour and Isolated Starches from Fresh Pumpkin or Flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 52. doi:10.1111/ijfs.13528
- Sari, D., Sugihartini, N., & Yuwono, T. (2015). Evaluasi Uji Iritasi Dan Uji Sifat Fisik Sediaan Emulgel Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*). *Pharmaciana*, 5. doi:10.12928/pharmaciana.v5i2.2493
- Shadab, M., & Shamsi, S. (2020). Original Research Article (Experimental): Design and Development of Unani Emulgel for Vitiligo. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 11(3), 199-205. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaim.2018.01.006>
- Sunnah, I., Erwiyani, A. R., Melati, N., & Yunisa, O. (2019). Efektivitas Komposisi Polivynil Alkohol, Propilenglikol dan Karbomer Terhadap Optimasi Masker Gel Peel-off Nano Ekstrak Daging Buah Labu Kuning (*Cucurbita maxima* D). *JPSCR*, 4(2), 82–94. doi:<https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i2.34399>
- Varma, N. S. K., Maheshwari, P. V., Navya, M., Reddy, S. C., Shivakumar, H. G., & Gowda, D. V. (2014). Calcipotriol Delivery into the Skin as Emulgel for Effective Permeation. *Saudi Pharm J*, 22(6), 591-599. doi:10.1016/j.jsps.2014.02.007
- Zulkarya, L. G., & Hastuti, E. D. (2018). Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Rumput Laut Coklat (*Padina australis*) dan Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(1), 81–87. doi:<https://doi.org/10.31596/cjp.v2i1.20>

The phenolic compounds of ethanolic extract of date seed (*Phoenix dactylifera* L.) exert hepatoprotective activity on rat induced carrageenan

Warsinah^{1*}, Esti Dyah Utami¹, Hanif Nasiatul Baroroh¹

¹Departement of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Jenderal Soedirman University, Purwokerto. Indonesia

*Correspondent author: warsinahapt@gmail.com

Abstract

Background: Hepatotoxic effects can occur with the use of toxic drugs or standard doses, but in the long term or chronic therapy. In addition to the drugs, carrageenan also causes hepatotoxic after 12 hours of induction intraperitoneally. The effect liver cell repair is highly related to the antioxidant activity of phenolic compounds in date seeds.

Objective: The present study determined the total phenolic levels and hepatoprotective activity of ethanol extracts of date palm seeds (EEBK) in carrageenan-induced rats.

Method: Determination of total phenolics in palm ethanol extract samples was carried out with the Folin-Ciocalteu reagent. This study was the pre and post-test control group design. Examination of SGOT and SGPT levels was performed by the kinetic method based on IFCC. Data was analyzed using paired t-test and ANOVA test.

Results: The total phenolic content of the ethanol extract of date seeds of Deglet Noor variety was 8.521% GAE. The ethanol extract of date seed (EEBK) with the dose of 150 mg/kg BW showed the highest reduction in SGOT levels (34.80 U / L). The highest average decrease in SGPT levels occurred at a therapeutic dose of 300 mg/kg BW was 16.20 U / L compared to doses of 150 and 600 mg/kg bb (11.60 and 15.60 U / L respectively).

Conclusion: The ethanol extract of date seed (EEBK) with the doses of 150, 300, and 600 mg/kg BW had hepatoprotective activity in carrageenan-induced rats as observed from a significant decreased in SGOT and SGPT levels ($p < 0.05$).

Key word: Date seed, phenolic total, extract, SGPT, SGOT

1. Introduction

The liver as the body's metabolic center can be damaged by drugs, because drug compounds (partial or full metabolism) are eliminated through the liver (Loho & Hasan, 2014). Drug use may causes hepatotoxicity or drug-induced liver injury (DILI) (Sonderup, 2011) which is increasing every year on its prevalence. The use of DILI in Dr. Hospital. M. Djamil Padang has reached 47% with all 100% of subjective and objective symptoms of hepatotoxicity (Julita, 2012). Hepatotoxic effects can occur with the use of toxic drugs or standard doses, but in the long term or chronic therapy. Previous study reported that carrageenan is one of compound that has hepatotoxicity after 12 hours of intraperitoneal administration (Fowler *et al.*, 1977; Mansouri *et al.*, 2015). The prevalence of the hepatotoxicity can be decreased by hepatoprotective agent. One of the natural ingredients can be developed as hepatoprotective is date palm seeds (*Phoenix dactylifera* L) since it contains phenolic compounds with high antioxidant activity. The ethanol extract of date

palm seed contains the highest phenolic compounds (4.84%), compared to acetone extract (4.30%), methanol extract (4.00%), and water extract (0.875%) (Ammar & Habiba, 2010). Phenolic compounds that detected in date palm seeds including catechins, quercetin, luteolin, procyanidins, epicatechins, and proanthocyanidins (Hammouda *et al.*, 2013). Moreover, luteolin, quercetin, and catechins showed a protective effect on hepatocyte cells (Añón *et al.*, 1992). Another study found that suspension in distilled water could improve liver lesions in the form of vacuolization and fibroblast proliferation in the rat liver (Abdelaziz & Ali, 2014). Based on that information, it is necessary to evaluate the determination of total phenolic levels and hepatoprotective activity of ethanol extract of date palm seeds in carrageenan-induced rats evaluated from the decreasing level of SGOT and SGPT.

2. Methods

2.1. Materials

Ethanol 96%, Na-CMC, carrageenan, Folin-Ciocalteu reagent, Gallic acid and Na₂CO₃ (Sigma-Aldrich Pte. Ltd., Singapore), NaCl 0,9% (Otsuka), BR2, diagnostic reagent of SGOT dan SGPT (Diasys), Date seed powder (Deglet Noor).

2.2. Preparation of date seed ethanol extract

Five hundred grams of date seed powder was put in a macerator and added with 2 liters of ethanol, then soaked for 24 hours and filtered. The maceration process was repeated up to 3x24 hours. The filtrate was evaporated using a vacuum evaporator until produced the ethanol extract of date seed (EEBK).

2.3. Determination of total phenolic content

The ethanol extract of date seeds (0.5 mL) was added to 2.5 ml of 10% Folin-Ciocalteu reagent in a test tube, kept in dark room for 5 minutes, and then added by 2 mL of 7.5% Na₂CO₃, stored in the dark for 3 hours. The absorbance of the extract was detected using spectrophotometer at the maximum wavelength obtained from a standard solution of gallic acid, which was 759.70 nm. Standard curves for gallic acid as a standard solution were prepared using similar procedure with the concentrations of 30, 32, 40, 60 and 80 ppm.

2.4. Hepatoprotective activity

The hepatoprotective activity was evaluated using pretest and posttest control group design. Twenty-five males Wistar rats aged 2-3 months and approximately 180–200-gram weight was divided in to five groups: normal group, the negative control and three treatment groups. The normal group was only given standard feed without any treatment. The negative control and the

treatment groups were induced by 1% carrageenan 2.5ml/100gram (i.p.) on day 1, 4, 8 and 11. Furthermore, the negative control was treated by vehicle Na-CMC solvent while the treatment group was administered by ethanol extract of date palm seeds with graded dose of 150, 300, and 600 mg/kg BW every day for 14 days, orally. Blood serum in normal, negative control, and treatment groups were collected at 12 hours post carrageenan induction (pretest) and on the day 15, at the end of the study, to determine the levels of both SGOT and SGPT. The levels of SGOT and SGPT was analyzed by kinetic method based on the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) using the DiaSys diagnostic kit. On the day 15, rats were sacrificed, and liver were isolated to be prepared for histopathological preparation with hematoxylin-eosin (HE) staining. The observations of liver changes (degeneration and necrosis) were investigated by a light microscope with 10 x 40 magnification, five fields of view.

2.4.1. Data analysis

Data were analyzed by SPSS 17 for windows with homogeneity test and Shapiro-Wilk for the normality test. Hypothesis testing employed paired t-test and ANOVA.

3. Result and discussion

The total phenolic content of the ethanol extract of the date seeds was 8.521% GAE which was higher than the ethanol extract of other varieties of date palm seeds such as Rashodia (4.35%), Nabtet-Ali (4.84%), Sukkari (4.76%), Sakai (4.76%) and Rothana (4.94%) (Ammar & Habiba, 2010). The differences of total phenolic levels in date seeds can occur because the dates come from different varieties. The other factors including genetics, plant sources, climatic conditions, and storage conditions may influence the total of phenolic levels (Gorinstein *et al.*, 2009). In addition, the production of phenolic compounds as secondary metabolite are strongly correlated to the presence of micro-organisms and insects, stress by UV radiation, exposure to the heavy metals, and the use of pesticides (Wang *et al.*, 2009).

The pretest SGOT and SGPT levels was analyzed using ANOVA followed by a post hoc test using LSD. It resulted the control and treatments were significantly ($p < 0.05$) different compared to the normal group (Table 1 and Table 2). The increasing of SGOT and the SGPT levels induced by carrageenan become one of the hepatotoxicity parameters. Carrageenan triggers the release of several cytokines such as TNF α and IL1 β (Nacife *et al.*, 2004). TNF α triggers the release of IL1 β and cytokine-induced neutrophil chemo attractant 1 which responsible for the stimulation of PG synthesis by COX-2. In addition, TNF α induces NO synthesis by activating iNOS and augmenting neutrophil responses to inflammatory stimuli in the liver (Cunha *et al.*, 2005).

The inflammation of the liver subsequent oxidative stress induction mediates the changes in SGOT or SGPT level on pre and post induction. The groups that experienced a decrease in SGOT and SGPT level were the normal and the treatment group. There was no decreasing effect of both SGOT and SGPT level in negative control group. In fact, the post-test result was higher than the pretest and displayed significant differences based on paired t-test analysis ($p < 0.05$) (Table 1 and Table 2). It conferred that Na-CMC solvent for negative control group had no hepatoprotective effect. The levels of SGOT and SGPT figures out the severity of hepatotoxicity. In the normal group, although there was a decreasing of both SGOT and SGPT level, yet not significant according to the paired t-test ($p > 0.05$). Meanwhile, a significant decrease found in treatment of date seed doses of 150, 300, and 600 mg/kg BW ($p < 0.05$). The extract possessed hepatoprotective effect since there was decreasing of post-test of SGOT and SGPT levels compared to pre-test that significantly difference for all doses of ethanol extract of date seeds ($p < 0.05$) against negative control group. The average of declining in SGOT level for the treatments group at the dose of 150, 300, and 600 mg/kg BW was 43, 25.8 and 34.8 respectively that showed significant differences to negative control. Moreover, the similar result for SGPT level that significantly different for all the treatment doses compare to the negative exhibit decreasing level of 11.60, 16.20, and 15.60 for doses 150, 300, 600 mg/kg BW consecutively. However, the ANOVA test resulted that there were no significant differences on SGOT and SGPT ($p > 0.05$) for all treatment group. Hence, the variation of ethanol extract of dates palm seeds doses did not interfere its anti-hepatotoxic activity based on the parameters of SGOT and SGPT (Table 1 and Table 2).

Table 1. The SGOT levels of dates palm seed ethanolic extract

Group	SGOT pre-test (U/L)	SGOT post-test (U/L)	Decreasing of SGOT level
Normal	82.00±8.22	79.00±6.21	3.00±8.57
Negative	149.00±29.24 ∞	468.00±61.17	-319.00±54.14
EEBK 150	137.80±18.36 ∞	94.80±19.73●	43.00±4.69*
EEBK 300	142.00±19.08 ∞	116.20±21.82●	25.80±4.82*
EEBK 600	149.80±14.01 ∞	115.00±16.69●	34.80±11.32*

Information: ∞ = SGOT pretest significantly from healthy controls on the ANOVA test ($P < 0.05$)

● = posttest SGOT significantly from pretest on paired t test ($P < 0.05$)

* = The decrease in SGOT was significantly from the negative control on the ANOVA test ($P < 0.05$)

EEBK: ethanol extract of dates palm seed

The decreasing in SGOT and SGPT levels in the ethanol extract of date palm seeds arise due to the high content of phenolic compounds in the ethanol extract of date palm seeds (Ammar & Habiba, 2010). Flavonoids and phenolic inhibit both cytochrome P450 and lipid peroxidation by exerting a membrane-stabilizing action (Middleton *et al.*, 2000), thereby supporting liver regeneration (Kowalska *et al.*, 1990). The SGOT and SGPT is associated with the SOD and GST. The cytokine NF- κ B activity was inhibited by GST (Muriel, 2017). Date seed extract decrease NF- κ B

activation and suppress the expression of COX-2 (Attia *et al.*, 2016). Liver inflammation processes including matrix swelling, fibrosis progression, and hepatocellular carcinoma development. The pro-inflammatory pathway was a potential strategy to prevent inflammatory liver injury and fibrogenesis (Planagumà *et al.*, 2005; Yamamoto *et al.*, 2003). Date seed extract maintains the activity of the antioxidant enzyme HO-1 in the liver, which is a potential mechanism on preventing the expression of NF- κ B in fibrotic liver tissue (Attia *et al.*, 2016). Research by Xue *et al.* (2007) showed that high levels of HO-1 expression were decreased NF- κ B expression to reduce the inflammatory reaction at 6 hours after reperfusion in the liver of cirrhotic mice.

Table 2. The SGPT levels of dates palm seed ethanolic extract

Group	SGPT pre-test (U/L)	SGPT post-test (U/L)	Decreasing of SGPT level
Normal	27.20±6.38	25.20±6.02	2.00±6.82
Negative	65.80±23.96 ^o	172.80±28.28 [•]	-107.00±16.17
EEBK 150	73.40±7.16 ^o	61.80±7.43 [•]	11.60±5.32*
EEBK 300	72.80±12.75 ^o	56.60±11.72 [•]	16.20±2.92*
EEBK 600	70.20±14.48 ^o	54.60±15.88 [•]	15.60±2.97*

Information: ^o = SGPT pretest significantly from healthy controls on the ANOVA test (P<0.05)

[•] = posttest SGPT significantly from pretest on paired t test (P<0.05)

* = The decrease in SGPT was significantly from the negative control on the ANOVA test (P<0.05)

In this study, there were no animal studies that experienced death or toxicity symptoms. The results of liver histopathology represent on Figure 1 for each test group. Macroscopic observations in the normal, negative control, and Date seed extract treatment group showed different colors of the liver. The normal as well as dates seed extract group was brownish red, while the negative control group was brown (figure 1). The normal liver has a red-brown color due to the flow of blood that enters the liver (Westbrook *et al.*, 2016). Changes in color gradation as the dose increases is namely the darker color gradation.

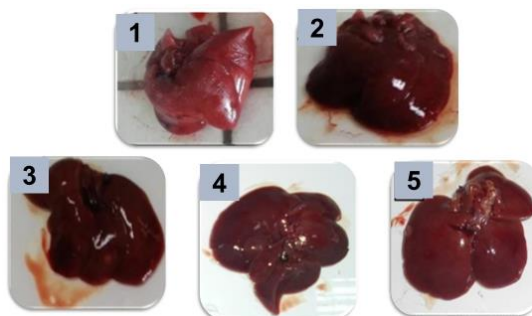


Figure 1. Morphological profile of rat liver

Note: 1. Normal, 2. Negative Control, 3. Treatment with a dose of 150 mg/BW, 4. Treatment with a dose of 300 mg/BW and 5. Treatment with a dose of 600 mg/BW

Contrary to the normal features of macroscopic observation, the microscopic investigation showed hydropic degeneration, fatty degeneration, and necrosis on all groups (Figure 2).

Furthermore, it was also detected varying degrees of damage of the hepatocyte. Normally, the hepatocytes are polygonal in shape and have a homogeneous red cytoplasm (Muriel, 2017). The parenchymatous degeneration cytoplasm is the mildest and reversible degeneration that characterized by unclear boundary between the cell nucleus and cytoplasm. The degeneration was due to oxidation interferences leading to the accumulation of protein deposits in the cytoplasm. Persistent parenchymatous degeneration may induce the hydropic degeneration. Hepatocyte that undergoes hydrophilic degeneration is swelling and water filled vacuole appearing in the cytoplasm. The hepatocyte damage continues tearing the plasma membrane and nuclear resulting necrosis. It occurs when the reactive chemical metabolites bind to hepatocyte ultimately on nucleophilic proteins. Metabolites with free chains bind covalently to proteins and unsaturated fatty acids of cell membranes, causing lipid peroxidation and membrane damage which particularly yielding in hepatocyte death (Amalina, 2009). The damage of hepatocyte was scored and analyzed using one-way ANOVA that showed not significantly differences among groups (Figure 3).

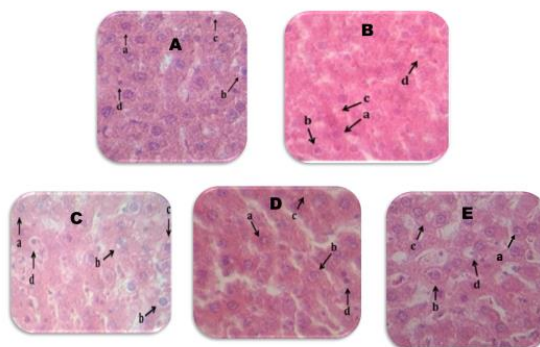


Figure 2. Histopathological profile of the liver

A. Normal control; B. Negative control; C. EEBK 150 treatment group; D. EEBK treatment group 300; E. EEBK treatment group 600; a. normal hepatocytes, b. hydropic degeneration, c. fatty degeneration, d. necrosis; 400x magnification, HE stains

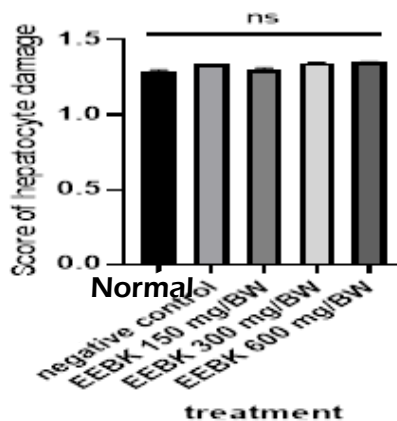


Figure 3. Score of hepatocyte damage

The administration of various doses of ethanol extract of dates seed did not show any significant changes in the microscopic profile of the liver of experimental animals despite the fact lowering the hepatic enzyme parameters. Hepatocyte damage was found in all group that may possibly be due to the influence of unhygienic food or external factors such as the environment, causing health problems for rats.

4. Conclusion

In conclusion, the total phenolic content of the ethanol extract of the Deglet Noor dates palm seeds was 8,521% GAE. Dates seed ethanol extract doses of 150, 300, and 600 mg/kg BW possessed hepatoprotective effect on carrageenan-induced rats by lowering both SGOT and SGPT level. There was no significant difference ($p>0.05$) between the three variations of doses on its activity. Based on the liver histopathological features, the dates seed with the dose of 150mg/kg BW was the most optimal dose reducing the risk of side effects and toxicity from the ethanol extract of date palm seeds.

Acknowledgement

The authors thank to the Rector of the Jenderal Soedirman University through the chairman of the LPPM for the funding support in this research on the institutional research scheme. On this occasion, the authors also would like to thank all those who have helped conducting this study.

References

- Abdelaziz, D. H., & Ali, S. A. (2014). The Protective Effect of Phoenix Dactylifera L. seeds Against CCl₄-Induced Hepatotoxicity in Rats. *J Ethnopharmacol*, 155(1), 736-743. doi:10.1016/j.jep.2014.06.026
- Amalina, N. (2009). *Uji toksisitas akut ekstrak Valerian (Valeriana officinalis) terhadap hepar Mencit Balb/C* (Bachelor). Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ammar, A. S., & Habiba, R. A. (2010). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Date Seeds. *J Agric Vet Sci Qassim Univ* 3, 3, 3-8.
- Añón, M. T., Ubeda, A., & Alcaraz, M. J. (1992). Protective Effects of Phenolic Compounds on CCl₄-induced Toxicity in Isolated Rat Hepatocytes. *Z Naturforsch C J Biosci*, 47(3-4), 275-279. doi:10.1515/znc-1992-3-417
- Attia, H., Al-Rasheed, N., Mohamad, R., Al-Rasheed, N., & Al-Amin, M. (2016). The Antifibrotic and Fibrolytic Properties of Date Fruit Extract Via Modulation of Genotoxicity, Tissue-inhibitor of Metalloproteinases and Nuclear Factor- Kappa B Pathway in A Rat Model of Hepatotoxicity. *BMC Complement Altern Med*, 16(1), 414. doi:10.1186/s12906-016-1388-2
- Cunha, T. M., Verri, W. A., Jr., Silva, J. S., Poole, S., Cunha, F. Q., & Ferreira, S. H. (2005). A Cascade of Cytokines Mediates Mechanical Inflammatory Hypernociception in Mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(5), 1755-1760. doi:10.1073/pnas.0409225102
- Fowler, E. F., Thomson, A. W., & Horne, C. H. (1977). Alleviation of Carrageenan-Induced Hepatotoxicity and Acronecrosis by Aprotinin. *Br J Exp Pathol*, 58(3), 260-267.
- Gorinstein, S., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Park, Y. S., Vearasilp, S., Suhaj, M., Ham, K. S., Heo, B. G., Cho, J. Y., & Jang, H. G. (2009). The Comparative Characteristics of Snake and Kiwi Fruits. *Food Chem Toxicol*, 47(8), 1884-1891. doi:10.1016/j.fct.2009.04.047

- Hammouda, H., Chérif, J. K., Trabelsi-Ayadi, M., Baron, A., & Guyot, S. (2013). Detailed Polyphenol and Tannin Composition and Its Variability in Tunisian Dates (*Phoenix dactylifera* L.) at Different Maturity Stages. *J Agric Food Chem*, *61*(13), 3252-3263. doi:10.1021/jf304614j
- Julita, I. (2012). Aspek Farmakokinetik Klinik Beberapa Obat Berpotensi Hepatotoksik pada Pasien Rawat Inap di Bangsal Paru RSUP DR. M. Djamil Padang periode Oktober 2011-Januari 2012. *Jurnal program master (S2) Unand*, *3*, 1-12.
- Kowalska, M. T., Brandt, M. E., & Puett, D. (1990). Inhibition of Cytochrome P-450 Aromatase Activity by Plant Extracts *Planta medica* *56*, 675-675.
- Loho, I. M., & Hasan, I. (2014). Drug-Induced Liver Injury–Tantangan dalam Diagnosis. *Cermin Dunia Kedokteran* *41*, 167-170.
- Mansouri, M. T., Hemmati, A. A., Naghizadeh, B., Mard, S. A., Rezaie, A., & Ghorbanzadeh, B. (2015). A Study of the Mechanisms Underlying the Anti-inflammatory Effect of Ellagic Acid in Carrageenan-induced paw Edema in Rats. *Indian J Pharmacol*, *47*(3), 292-298. doi:10.4103/0253-7613.157127
- Middleton, E., Jr., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacol Rev*, *52*(4), 673-751.
- Muriel, P. (2017). *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants*: Academic press.
- Nacife, V., Soeiro, M., Gomes, R., D'Avila, H., Neto, H., & Meirelles, M. (2004). Morphological and Biochemical Characterization of Macrophages Activated by Carrageenan and Lipopolysaccharide In Vivo. *Cell structure and function*, *29*, 27-34. doi:10.1247/csf.29.27
- Planagumà, A., Clària, J., Miquel, R., López-Parra, M., Titos, E., Masferrer, J. L., Arroyo, V., & Rodé, J. (2005). The Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor SC-236 Reduces Liver Fibrosis by Mechanisms Involving Non-Parenchymal Cell Apoptosis and PPAR γ Activation. *The FASEB journal* *19*, 1120-1122. doi:https://doi.org/10.1096/fj.04-2753fje
- Sonderup, M. W. (2011). Drug-Induced Liver Injuries. *CME: Your SA Journal of CPD*, *29*, 244-246.
- Wang, S., Chen, C.-T., & Wang, C. (2009). The Influence of Light and Maturity on Fruit Quality and Flavonoid Content of Red Raspberries. *Food Chemistry*, *112*, 676-684. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.032
- Westbrook, R. H., Dusheiko, G., & Williamson, C. (2016). Pregnancy and liver disease. *J Hepatol*, *64*(4), 933-945. doi:10.1016/j.jhep.2015.11.030
- Xue, H., Guo, H., Li, Y. C., & Hao, Z. M. (2007). Heme Oxygenase-1 Induction by Hemin Protects Liver Cells from Ischemia/Reperfusion Injury in Cirrhotic Rats. *World J Gastroenterol*, *13*(40), 5384-5390. doi:10.3748/wjg.v13.i40.5384
- Yamamoto, H., Kondo, M., Nakamori, S. N., H, Wakasa, K., Sugita, Y., Chang—de, J., Kobayashi, S., Damdinsuren, B., & Dono, K. (2003). JTE-522, A Cyclooxygenase-2 Inhibitor, is An Effective Chemopreventive Agent Against Rat Experimental Liver Fibrosis *Gastroenterology* *125*, 556-571.

Assessment of prescribing pattern based on WHO indicators at "X" Primary Health Care in Sleman Regency

Gambaran pola persepsan di Puskesmas "X" Kabupaten Sleman berdasarkan indikator WHO

Kristy Tri Wardhani¹, Dian Medisa^{2*}, Saepudin^{1,3}, Ifada⁴

¹Prodi Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

²Program Studi Profesi Apoteker, Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

³Drug Utilization Research Centre, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

⁴Puskesmas Gamping 2, Sleman, Yogyakarta

*Corresponding author: dianmedisa@uui.ac.id

Abstract

Background: Puskesmas is a primary level of health service facility that must implement rational drug use. A rational prescribing pattern will improve the quality of health services.

Objective: The aim of this study was to know the prescribing pattern at the "X" Primary Health Care in Sleman Regency based on WHO indicators.

Method: A retrospective observational study was conducted to assess the prescribing pattern. The sample was selected using simple random sampling and analyzed descriptively. The data was collected from prescriptions in Mei 2019.

Result: The results of this study showed the average number of drugs per prescription was 2.66, drugs prescribed by generic name was 100%. The percentage of encounter in which injection and antibiotic was prescribed was 0% and 15.83% respectively. Most of drugs (91.85%) were included in National Formulary.

Conclusion: It can be concluded that the prescribing pattern at Puskesmas X is rational according to the target of the Ministry of Health and WHO, but it is necessary to carry out a continuous MTP (monitoring training planning) process involving related parties.

Keywords: prescribing pattern, primary health care, Sleman, WHO indicators

Intisari

Latar belakang: Puskesmas adalah fasilitas pelayanan kesehatan tingkat I yang harus menerapkan penggunaan obat rasional. Pola persepsan yang rasional akan menghasilkan kualitas dalam pelayanan kesehatan masyarakat.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran pola persepsan di Puskesmas "X" Kabupaten Sleman berdasarkan indikator persepsan WHO.

Metode: Penelitian merupakan penelitian observasional secara retrospektif menggunakan resep bulan Mei 2019. Sampel resep diambil dengan metode *random sampling* dan data dianalisis secara deskriptif.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah obat per lembar resep adalah 2,66, tingkat persepsan obat dengan nama generik 100%, tingkat penggunaan antibiotik sebesar 15,83% dari total kasus, tingkat persepsan injeksi 0%, dan kesesuaian persepsan dengan Formularium Nasional 2017 sebesar 91,85%.

Kesimpulan: Pola persepsan di Puskesmas X sudah rasional sesuai target Kementerian Kesehatan dan WHO, namun perlu dilakukan proses MTP (*monitoring training planning*) berkesinambungan melibatkan pihak terkait.

Kata kunci: pola persepsan, puskesmas, Sleman, indikator WHO

1. Pendahuluan

Obat adalah komoditas yang tidak tergantikan karena manfaatnya dalam pengobatan. Setiap pemberian obat kepada pasien harus berdasarkan pada indikasi dan diagnosis, serta manfaat yang diperoleh. Data penggunaan obat di Indonesia yang dikumpulkan oleh *World Health Organization* (WHO), menunjukkan tingkat ketidakrasionalan persepsian dan penggunaan obat di Indonesia sejak tahun 1999 hingga tahun 2010, diukur dari indikator rata-rata jumlah obat per lembar resep, penggunaan antibiotik dan injeksi, persepsian dengan nama generik, serta kesesuaian dengan formularium (WHO, 2011).

Peran apoteker di puskesmas tidak semata-mata melakukan pelayanan kefarmasian dan menjamin ketersediaan obat dalam hal jumlah sesuai waktu yang dibutuhkan, namun juga dalam pelaksanaan pemantauan penggunaan obat. Pemantauan ini bermanfaat bagi pelaku pengobatan untuk melihat mutu pelayanan pengobatan dan mutu keprofesian, sehingga dapat dideteksi adanya ketidakrasionalan dalam persepsian yang dapat berupa penggunaan obat yang berlebih (*over prescribing*), kurang (*under prescribing*), boros (*extravagant prescribing*), ataupun penggunaan obat yang tidak tepat (*incorrect proscibing*). Pemantauan secara berkala dapat digunakan untuk menyusun perencanaan obat dan memperkirakan kebutuhan secara lebih rasional, dengan melibatkan pihak terkait termasuk pemegang program dan penulis resep, serta menjadi dasar pembinaan bagi kinerja tenaga kesehatan. Penerapan penggunaan obat yang rasional di puskesmas menjadi salah satu indikator keberhasilan kinerja peningkatan pelayanan kefarmasian nasional sesuai target renstra 2015-2019 (Kemenkes, 2019).

Berdasarkan laporan kinerja Direktorat Pelayanan Kefarmasian tahun 2018, indikator persentase kabupaten/kota yang menerapkan penggunaan obat rasional (POR) dihitung dari jumlah kabupaten/kota yang minimal 20% puskesmas di wilayahnya dengan capaian POR minimal 60%. Penerapan penggunaan obat rasional diukur dari indikator penggunaan antibiotik pada ISPA non pneumonia dan pada kasus diare non spesifik, penggunaan injeksi pada kasus myalgia, serta rata-rata jenis obat per lembar resep. Pada tahun 2018, hanya terdapat 17 dari 34 provinsi di Indonesia yang mencapai indikator tersebut. Daerah Istimewa Yogyakarta dilaporkan belum dapat mencapai indikator tersebut (Kemenkes, 2019).

Konferensi Penggunaan Obat Rasional di Nairobi yang diprakarsai oleh WHO tahun 1985 dilatarbelakangi oleh persepsian yang mayoritas tidak rasional di berbagai negara, sehingga pada tahun 1993, WHO menerbitkan petunjuk manual mengenai metode pengukuran penggunaan obat dan persepsian di fasilitas kesehatan. Petunjuk manual ini dapat digunakan di berbagai negara

ataupun fasilitas kesehatan tanpa memerlukan penyesuaian. Menurut WHO, kerasionalan penggunaan obat dapat dinilai dengan indikator persepsian, pelayanan, dan fasilitas. Terdapat lima indikator persepsian yang dapat digunakan secara umum di semua fasilitas kesehatan, yaitu jumlah rata-rata obat dalam satu lembar resep; persentase obat yang diresepkan dengan nama generik; persentase resep antibiotik; persentase resep injeksi; dan persentase kesesuaian resep dengan formularium (WHO, 1993).

Puskesmas "X" merupakan salah satu fasilitas kesehatan primer di Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta. Dalam upaya mewujudkan penggunaan obat rasional di puskesmas tersebut, maka perlu dilakukan penelitian secara retrospektif terkait gambaran pola persepsian secara umum. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan gambaran pola persepsian berdasarkan indikator WHO di Puskesmas X Kabupaten Sleman.

2. Metode

2.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan di Puskesmas X, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta dengan rancangan *cross-sectional*.

2.2. Pengumpulan data

Data yang digunakan adalah 120 resep yang diambil secara retrospektif dari arsip unit farmasi pada bulan Mei 2019. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *simple random sampling*. Resep merupakan resep poli umum baik BPJS maupun non-BPJS (WHO, 1993). Data yang diambil meliputi identitas pasien dan nama obat dalam resep.

2.3. Analisis data

Hasil rekapitulasi dianalisis menggunakan indikator persepsian sesuai WHO, yaitu rata-rata jumlah obat per lembar resep, persentase persepsian obat generik, persentase penggunaan antibiotik dan injeksi, serta kesesuaian dengan formularium. Dalam hal ini, formularium yang digunakan adalah Formularium Nasional Tahun 2017.

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian retrospektif ini dilakukan di Puskesmas X yang merupakan Fasilitas Kesehatan Tingkat I, untuk menilai lima indikator persepsian sesuai WHO. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2019 dengan menggunakan data persepsian bulan Mei 2019 yang terdiri dari 24 hari kerja. Jumlah total resep pada setiap hari pelayanan dibagi dengan 5, sehingga diperoleh interval nomor resep yang digunakan sebagai sampel. Total jumlah resep yang digunakan sebagai sampel dalam

penelitian ini adalah sebanyak 120 lembar terdiri dari 319 obat, dengan 52 jenis obat yang digunakan. Jenis obat yang paling sering diresepkan tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Sepuluh jenis obat yang paling sering diresepkan

Nama Obat	Frekuensi	Persentase (%)
Parasetamol 500 mg tablet	48	15,05
Amlodipin 5 mg tablet	34	10,66
Vitamin B12 (sianokobalamin) tablet	22	6,90
Klorfeniramin maleat 4 mg tablet	20	6,27
Ibuprofen 400 mg tablet	18	5,64
Obat batuk hitam (OBH)	16	5,02
Kalsium laktat 500 mg tablet	15	4,70
Tablet tambah darah (TTD) tablet	14	4,39
Amoksisilin 500 mg kaplet	12	3,76
Amlodipin 10 mg tablet	11	3,45

3.1. Jumlah obat per lembar resep

Rata-rata jumlah obat per lembar resep sebanyak 2,66 (Tabel 2), sesuai dengan standar WHO (≤ 3), namun sedikit melebihi target capaian POR Kementerian Kesehatan ($\leq 2,6$) (Kemenkes, 2011; WHO, 1993). Penggunaan obat rasional berdasarkan indikator peresepan di Puskesmas Kota Depok dan Jakarta Selatan tahun 2011 menunjukkan rata-rata jumlah obat per lembar resep 3,96 (Kardela *et al.*, 2014). Penilaian indikator peresepan yang dilakukan pada tahun 2014 di Puskesmas wilayah Jawa Barat, Banten, Jawa Tengah dan DIY menunjukkan rata-rata jumlah obat per lembar resep 3,31 (Yuniar *et al.*, 2017). Sedangkan penilaian di seluruh Puskesmas Kota Kendari pada tahun 2016 menunjukkan rata-rata jumlah obat per lembar resep 3,23 (Ihsan *et al.*, 2017). Evaluasi penggunaan obat di puskesmas Kecamatan Cilincing, Koja, dan Penjaringan Jakarta Utara periode Januari-Desember 2016 menunjukkan rata-rata jumlah obat tiap pasien 3,17 (Wijayanti *et al.*, 2017). Tingkat penggunaan obat yang tinggi bisa disebabkan karena proporsi pasien dengan penyakit penyerta lebih banyak, dan membutuhkan obat yang lebih banyak (WHO, 1993).

Tabel 2. Pola peresepan obat di Puskesmas X berdasarkan indikator peresepan menurut WHO

Parameter Indikator	Puskesmas X	Standar WHO
Jumlah lembar resep	120	
Jumlah obat keseluruhan	319	
Rata-rata jumlah obat per lembar resep	2,66	≤ 3
Persentase obat yang diresepkan dengan nama generik	100%	100%
Persentase resep yang mengandung antibiotik	15,83%	15-25%
Persentase resep yang mengandung injeksi	0%	-
Persentase kesesuaian peresepan dengan Formularium Nasional	91,85%	100%

Penggunaan obat yang terlalu banyak tidak menguntungkan dalam segi rasionalitas, biaya, dan keamanan bagi pasien. Resiko terjadinya interaksi obat dapat diminimalkan saat pengkajian resep dan pemberian informasi yang disampaikan oleh apoteker saat penyerahan obat. Namun demikian, pasien beresiko lupa atau tingkat kepatuhannya menjadi rendah, karena terlalu banyak obat yang harus digunakan.

3.2. *Persentase peresepan obat dengan nama generik*

Obat generik adalah obat dengan nama resmi *International Nonproprietary Names* (INN) yang ditetapkan dalam Farmakope Indonesia atau buku standar lainnya untuk zat berkhasiat yang ada di dalam suatu sediaan obat (Kemenkes, 2011). Pada penelitian kali ini, semua obat yang diresepkan di Puskesmas X periode bulan Mei 2019 adalah generik, sehingga capaian rasionalitas pada indikator ini mencapai 100%. Puskesmas merupakan UPT (Unit Pelaksana Teknis) dari Dinas Kesehatan yang merupakan fasilitas kesehatan milik pemerintah. Dengan demikian, puskesmas wajib menggunakan obat generik (Kemenkes, 2011). Tingkat capaian indikator ini sudah sesuai dengan capaian yang ditargetkan oleh WHO dan Kementerian Kesehatan.

Penilaian indikator peresepan di Puskesmas Kota Depok dan Jakarta Selatan tahun 2011 menunjukkan tingkat peresepan obat dengan nama generik sekitar 97,83% (Kardela *et al.*, 2014). Penelitian lain yang dilakukan tahun 2014 di Puskesmas wilayah Jawa Barat, Banten, Jawa Tengah dan DIY menunjukkan tingkat peresepan obat generik 93,3% (Yuniar *et al.*, 2017). Penggunaan obat rasional berdasarkan indikator peresepan tahun 2016 di seluruh Puskesmas Kota Kendari menunjukkan tingkat peresepan obat generik 96,08% (Ihsan *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan di puskesmas Kecamatan Cilincing, Koja, dan Penjaringan Jakarta Utara tahun 2016 menunjukkan persentase peresepan obat generik 97,97% (Wijayanti *et al.*, 2017). Salah satu indikator tercapainya sasaran penggunaan obat rasional dan suksesnya program jaminan kesehatan nasional di Indonesia adalah peresepan obat dengan nama generik. Untuk menjamin kualitas produk obat generik yang digunakan oleh masyarakat luas, pemerintah tidak hanya memantau dan mengatur perizinan sarana dan produk, distribusi, dan harga, namun juga kualitas, baik *pre-market* maupun *post-market* melalui Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).

3.3. *Persentase penggunaan antibiotik*

Pembatasan penggunaan antibiotik menjadi konsentrasi di seluruh dunia terkait dengan bakteri yang bermutasi menjadi resisten terhadap antibiotik yang sering digunakan saat ini. Selain itu, selama beberapa dekade terakhir, penelitian untuk penemuan antibiotik baru tidak semarak

ketika masa awal penemuan antibiotik. Puskesmas sebagai ujung tombak pelayanan kesehatan, memiliki peran besar dalam menjaga penggunaan antibiotik agar tetap poten melawan bakteri.

Daftar obat yang termasuk antibiotik dalam penilaian indikator persepsian menurut WHO adalah golongan penisilin dan antibakteri lainnya, antibiotik topikal, antibiotik yang digunakan pada mata seperti oksitetrasiklin atau kloramfenikol tetes atau salep mata, dan antibiotik yang digunakan pada kasus diare seperti streptomisin, neomisin, nifuroksazid atau kombinasinya. Yang tidak termasuk sebagai kategori antibiotik adalah antiprotozoa, antihelminthik, dan antituberkulosis. Daftar antimikroba yang bukan termasuk antibiotik untuk pengukuran indikator persepsian menurut WHO adalah antifilarial, *antischistosomal*, antileptospira, antituberkulosis, antifungi, antiamuba dan anti giardiasis, antileishmaniasis, antimalaria, dan antitripanosomal. Obat metronidazole lebih sering untuk antimikroba/antiprotozoa, maka untuk pengukuran indikator persepsian, tidak dikategorikan sebagai antibiotik (WHO, 1993). Jenis antibiotik yang digunakan dalam resep pada penelitian kali ini tertera pada tabel 3. Hasil penelitian kali ini, tingkat penggunaan antibiotik sebesar 15,83% dari total kasus. Hasil ini memenuhi kriteria WHO untuk persepsian antibiotik secara umum di negara-negara yang lazim ditemui penyakit infeksi, yaitu 15-25% (WHO, 2002).

Tabel 3. Jenis antibiotik yang diresepkan di Puskesmas X

Nama Obat	Frekuensi	Persentase (%)
Amoksisilin 500 mg kaplet	12	60,0
Basitrasin salep kulit	3	15,0
Siprofloksasin 500 mg tablet	3	15,0
Amoksisilin DS 250 mg/5mL	1	5,0
Kloramfenikol tetes mata	1	5,0
Total	20	100,0

Penggunaan obat-obatan di berbagai negara selama periode tahun 1990 hingga 2009 untuk enam indikator persepsian WHO secara keseluruhan, tidak berubah secara substansial selama 20 tahun terakhir. Penggunaan antibiotik terus meningkat dari waktu ke waktu dari 42% sebelum 1992 menjadi 51% pada tahun 2007-2009 (Holloway *et al.*, 2013). Evaluasi penggunaan obat rasional tahun 2011 di Puskesmas Kota Depok dan Jakarta Selatan menunjukkan tingkat persepsian antibiotik sekitar 47% (Kardela *et al.*, 2014). Indikator persepsian antibiotik di Puskesmas wilayah Jawa Barat, Banten, Jawa Tengah dan DIY tahun 2014 sebesar 42,8% (Yuniar *et al.*, 2017). Evaluasi penggunaan antibiotik di seluruh Puskesmas Kota Kendari tahun 2016 sebanyak 36,85% (Ihsan *et al.*, 2017). Penilaian penggunaan obat di puskesmas Kecamatan Cilincing, Koja, dan Penjaringan Jakarta Utara periode Januari–Desember 2016 menunjukkan persentase persepsian antibiotik 4,76% (Wijayanti *et al.*, 2017).

3.4. *Persentase peresepan injeksi*

Tingkat peresepan injeksi di Puskesmas X sebesar 0%, sesuai dengan target indikator yang ditetapkan oleh Dinas Kesehatan Kabupaten Sleman dan Kementerian Kesehatan. Pengadaan obat di puskesmas diatur oleh Dinas Kesehatan, sehingga ketersediaan obat berkaitan dengan tingkat penggunaannya. Dalam hal ini, Dinas Kesehatan Kabupaten Sleman tidak mengadakan obat injeksi yang digunakan untuk pasien rawat jalan di puskesmas, sehingga obat-obat ini tidak tersedia di puskesmas. Persediaan obat injeksi di puskesmas hanya digunakan sebagai obat emergensi/*lifesaving*.

Tingkat penggunaan injeksi tahun 2014 di Puskesmas wilayah Jawa Barat, Banten, Jawa Tengah dan DIY lebih besar dibandingkan Puskesmas X yakni sebesar 0,7% (Yuniar *et al.*, 2017). Persentase peresepan injeksi di Nepal, Pakistan, dan Kenya juga menunjukkan nilai yang lebih besar yaitu 3%, 27,1%, dan 24,9% (Atif *et al.*, 2016; Dahal *et al.*, 2012; Nyabuti *et al.*, 2020). Penilaian penggunaan obat di Puskesmas Kecamatan Cilincing dan Kuta menunjukkan tidak adanya peresepan injeksi (0%) sama dengan di Puskesmas X (Dewi *et al.*, 2018; Wijayanti *et al.*, 2017).

3.5. *Persentase peresepan sesuai formularium*

Pada tahun 2010, pemerintah memberlakukan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.02.02/MENKES/068/I/2010 Tentang Kewajiban Menggunakan Obat Generik di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Pemerintah. Dengan adanya peraturan ini, maka puskesmas sebagai fasilitas pelayanan kesehatan pemerintah wajib meresepkan obat generik. Hasil dari penerapan aturan ini dapat dilihat dari peningkatan persentase peresepan dengan nama generik di puskesmas yang mendekati 100% (Kemenkes, 2010). Penerapan Jaminan Kesehatan Nasional 2014 di Indonesia diikuti dengan penyusunan Formularium Nasional yang menjadi acuan dalam penyediaan obat untuk pelayanan kesehatan. Formularium Nasional diambil berdasarkan Daftar Obat Esensial (DOEN) sebagai referensi utama, dan beberapa kali mengalami penyesuaian, hingga saat ini yang berlaku adalah Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/659/2017 Tentang Formularium Nasional. Dengan adanya peraturan ini, maka puskesmas wajib menyediakan obat-obat untuk fasilitas kesehatan tingkat I. Dari tahun ke tahun, kesesuaian peresepan dengan formularium terus mengalami peningkatan (Kemenkes, 2017).

Pada penelitian ini, terdapat 6 jenis obat yang tidak tercantum dalam Formularium Nasional 2017 untuk fasilitas kesehatan tingkat I (Tabel 4). Sediaan cetirizine yang direkomendasikan untuk tersedia di fasilitas pelayanan tingkat I sesuai Formularium Nasional 2017 adalah dalam bentuk sediaan sirup cairan obat minum. Obat batuk hitam, gliseril guaiakolat 100 mg tablet, dan ambroxol

15mg/5mL sirup yang merupakan ekspektoran dan mukolitik tidak tercantum dalam Formularium Nasional. Golongan obat ekspektoran yang tercantum dalam Formularium Nasional adalah N-asetil sistein 200 mg kapsul.

Tabel 4. Obat yang tidak tercantum dalam Formularium Nasional untuk fasilitas kesehatan tingkat I

Nama Obat	Frekuensi	Persentase (%)
Obat Batuk Hitam (OBH)	16	61,5
Basitrasin salep kulit	3	11,6
Gemfibrozil 300 mg kapsul	3	11,6
Ambroxol 15mg/5mL sirup	2	7,7
Glyceril Guaiacolat 100 mg tablet	1	3,8
Cetirizine 10 mg tablet	1	3,8
Total	26	100,0

Hasil penelitian kali ini menunjukkan persentase kesesuaian peresepan dengan Formularium Nasional sebesar 91,85%. Berdasarkan profil kesehatan Puskesmas X tahun 2018, *common cold* dan batuk termasuk dalam 10 besar penyakit untuk semua golongan umur. Obat yang selama ini sering digunakan oleh masyarakat adalah obat batuk hitam, gliseril guaiakolat, dan ambroxol. Namun ketiga obat tersebut tidak tercantum dalam Formularium Nasional. Tingginya kasus dan diagnosis yang membutuhkan penggunaan ketiga jenis obat tersebut menyebabkan rendahnya persentase kesesuaian peresepan dengan formularium.

Evaluasi indikator peresepan di Puskesmas Kota Depok dan fasilitas kesehatan di Afrika menunjukkan kesesuaian peresepan dengan DOEN sebesar 88,47% dan 88% (Kardela *et al.*, 2014; Ofori-Asenso *et al.*, 2016). Evaluasi penggunaan obat di fasilitas kesehatan primer kota Alexandria, Arab, dan Provinsi Jawa Tengah menunjukkan lebih dari sembilan puluh persen (95,4%, 100%, dan 92%) item obat telah diresepkan sesuai dengan formularium (Akl *et al.*, 2014; Endarti *et al.*, 2019; Jahan *et al.*, 2019).

Penelitian pola peresepan yang dilakukan di Puskesmas X kali ini secara umum menunjukkan capaian rasionalitas peresepan yang baik, berdasar indikator yang ditetapkan oleh WHO. Namun demikian, perlu dilakukan monitoring evaluasi secara berkala dan periodik untuk terus memantau rasionalitas peresepan dengan melibatkan pihak terkait, misalnya pembuat kebijakan, pelaksana penulis resep, pemberi layanan obat, dan pihak manajerial lainnya. Salah satu strategi untuk melakukan monitoring evaluasi adalah dengan MTP (*monitoring training planning*) secara berkesinambungan.

4. Kesimpulan

Pola persepsian di Puskesmas X periode Bulan Mei 2019 berdasarkan indikator persepsian WHO menunjukkan rerata jumlah obat per lembar resep adalah 2,66, tingkat persepsian obat dengan nama generik 100%, tingkat penggunaan antibiotik sebesar 15,83% dari total kasus, tingkat persepsian injeksi 0%, dan kesesuaian persepsian dengan Formularium Nasional 2017 adalah sebesar 91,85%. Semua hasil tersebut memenuhi kriteria indikator yang ditetapkan Kementerian Kesehatan dan WHO. Perlu dilakukan proses MTP (*monitoring training planning*) yang melibatkan pihak terkait untuk mempertahankan dan meningkatkan penggunaan obat rasional.

Ucapan terimakasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Program Studi Profesi Apoteker Universitas Islam Indonesia atas bantuan dana untuk pelaksanaan penelitian ini.

Daftar pustaka

- Akl, O. A., Mahalli, A. A. E., Elkahky, A. A., & Salem, A. M. (2014). WHO/INRUD drug use indicators at primary healthcare centers in Alexandria, Egypt. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 9, 54-64.
- Atif, M., Sarwar, M., Azeem, M., Naz, M., Amir, S., & Nazir, K. (2016). Assessment of Core Drug Use Indicators Using WHO/INRUD Methodology at Primary Healthcare Centers in Bahawalpur, Pakistan. *BMC Health Services Research*, 16. doi:10.1186/s12913-016-1932-2
- Dahal, P., Bhattarai, B., R. S., Baral, S., & Shrestha, N. (2012). Drug Use Pattern in Primary Health Care facilities of Kaski District, Western Nepal. *Sunsari Technical College Journal*, 1, 1-8. doi:10.3126/stcj.v1i1.8652
- Dewi, S. D. A. P., Arimbawa, P. E., & Jaelani, A. K. (2018). Evaluation Of Drugs Use With Who Prescribing Indicator In Kuta Primary Health. *Jurnal Endurance*, 3(3), 483-489.
- Endarti, D., Oei, Y. W., Sawitri, A., Wiedyaningsih, C., & Fudholi, A. (2019). Assessment of The Rational Use of Medicines: Prescribing Patterns and Indicators At Public Primary Health Care and Hospital in Indonesia *Int. Res. J. Pharm*, 10(4), 78-82.
- Holloway, K. A., Ivanovska, V., Wagner, A. K., Vialle-Valentin, C., & Ross-Degnan, D. (2013). Have We Improved Use of Medicines in Developing and Transitional Countries and Do We Know How To? Two Decades of Evidence. *Trop Med Int Health*, 18(6), 656-664.
- Ihsan, S., Sabarudin, S., Leorita, M., Syukriadi, A. S. Z., & Ibrahim, M. H. (2017). Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Ditinjau dari Indikator Persepsian Menurut World Health Organization (WHO) di Seluruh Puskesmas Kota Kendari Tahun 2016. *Medula*, 5(1), 402-409.
- Jahan, S., Al Saigul, A., & Hamdelsseed, S. (2019). Primary Health Care Physicians' Prescribing Patterns for Children Under Five in Qassim, Saudi Arabia. *Primary Health Care Research & Development*, 20, 1-7. doi:10.1017/S1463423619000148
- Kardela, W., Andrajati, R., & Supardi, S. (2014). Perbandingan Penggunaan Obat Rasional Berdasarkan Indikator WHO di Puskesmas Kecamatan antara Kota Depok dan Jakarta Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 91-102.

- Kemenkes. (2010). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.02.02/MENKES/068/I/2010 tentang Kewajiban Menggunakan Obat Generik di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Pemerintah*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Kemenkes. (2011). *Modul Penggunaan Obat Rasional Direktorat Bina Pelayanan Kefarmasian*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Kemenkes. (2017). *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/659/2017 tentang Formularium Nasional*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Kemenkes. (2019). *Laporan Kinerja 2018 Direktorat Bina Pelayanan Kefarmasian*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Nyabuti, A. O., Okalebo, F. A., & Guantai, E. M. (2020). Examination of WHO/INRUD Core Drug Use Indicators at Public Primary Healthcare Centers in Kisii County, Kenya. *Adv Pharmacol Pharm Sci, 2020*, 3173847. doi:10.1155/2020/3173847
- Ofori-Asenso, R., Brhlikova, P., & Pollock, A. M. (2016). Prescribing Indicators at Primary Health Care Centers within the WHO African Region: A Systematic Analysis (1995-2015). *BMC Public Health, 16*, 724. doi:10.1186/s12889-016-3428-8
- WHO. (1993). *How to Investigate Drug Use in Health Facilities* Geneva: World Health Organization
- WHO. (2002). *Promoting rational use of medicine core components. WHO policy perspectives on medicine*. Geneva: World Health Organization
- WHO. (2011). *The world medicine situation: Medicine Prices, Availability and Affordability*. Geneva: World Health Organization
- Wijayanti, R., Meila, O., & Septiyani, A. (2017). Evaluasi Penggunaan Obat dengan Indikator Prescribing pada Puskesmas Jakarta Utara Periode Tahun 2016. *Social Clinical Pharmacy Indonesia Journal, 2*(1), 23–28.
- Yuniar, Y., Susyanty, A. L., & Sari, I. D. (2017). Penilaian Indikator Peresepan di Fasilitas Kesehatan Primer Pemerintah dan Swasta di Pulau Jawa, Indonesia *Jurnal Kefarmasian Indonesia, 7*(1), 55–66.

Antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) using CUPRAC method

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menggunakan metode CUPRAC

Putri Indah Sayakti^{1*}, Norma Anisa¹, Hafiz Ramadhan¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

*Corresponding author: putriindahsayakti@gmail.com

Abstract

Background: Antioxidants are a group of organic molecules and enzymes that work synergistically to enhance cellular defenses and combat oxidative stress. Antioxidants can come from plants because they contain many groups of phytochemical compounds and vitamins. One of the plants that has compounds with antioxidant activity is cassava.

Objective: To measure the antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves using the CUPRAC method.

Methods: Cassava leaves were extracted by maceration using methanol as a solvent with the addition of 5% H₂SO₄. Phytochemical screening of flavonoids with Mg and HCl, while phenol with the addition of FeCl₃. The antioxidant activity based on the reaction of the test solution with CUPRAC reagent. Antioxidant activity can be determined by IC₅₀ value by using x value as concentration and y value as absorbance.

Results: The results of phytochemical screening showed that the methanol extract of cassava leaves contained flavonoids and phenolic groups. The antioxidant capacity of the methanol extract of cassava leaves obtained an IC₅₀ value of 156.03 ppm, while quercetin has a very strong capacity as an antioxidant with an IC₅₀ of 9.83 ppm.

Conclusion: The methanol extract of cassava leaves has a weak antioxidant capacity in reducing metal ions.

Keywords: Cassava leaves, *Manihot esculenta* Crantz, methanol extract, antioxidants, CUPRAC.

Intisari

Pendahuluan: Antioksidan adalah kelompok molekul organik dan enzim yang bekerja secara sinergis untuk meningkatkan pertahanan seluler dan memerangi stres oksidatif. Antioksidan dapat berasal dari tanaman karena banyak mengandung golongan senyawa fitokimia dan vitamin. Tanaman yang memiliki senyawa dengan aktivitas antioksidan salah satunya adalah singkong.

Tujuan: Mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun singkong menggunakan metode CUPRAC.

Metode: Daun Singkong diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol dengan penambahan H₂SO₄ 5%. Skrining fitokimia flavonoid dengan Mg dan HCl, sedangkan fenol dengan penambahan FeCl₃. Kapasitas antioksidan berdasarkan reaksi larutan uji dengan reagen CUPRAC yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil: Uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun singkong mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik. Kapasitas antioksidan ekstrak tersebut ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 156,03 ppm, sedangkan quersetin memiliki kapasitas yang sangat kuat sebagai antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 9,83 ppm.

Kesimpulan: Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong tergolong lemah dalam mereduksi ion logam.

Kata kunci: Daun singkong, *Manihot esculenta* Crantz, ekstrak metanol, antioksidan, CUPRAC

1. Pendahuluan

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam tubuh kita karena tugasnya menghambat molekul radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa sangat reaktif akibat adanya elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluar sehingga menyebabkan terjadinya reaksi berantai yang terjadi secara terus menerus. Reaksi ini mengambil elektron yang terdapat pada sel normal untuk menstabilkan reaksi berantai dan mengakibatkan kerusakan pada sel normal. Antioksidan dapat menghentikan reaksi ini dengan meredakan terjadinya reaksi berantai (Wahdaningsih *et al.*, 2011). Mekanisme peredaman yang dilakukan oleh antioksidan adalah dengan memberikan elektron kepada radikal bebas sehingga elektron terluarnya menjadi berpasangan dan lebih stabil. Peredaman ini menghambat reaksi berantai sehingga menghentikan dan mencegah kerusakan yang terjadi pada sel normal. Senyawa antioksidan dapat bersumber dari bahan alam, salah satunya adalah simplisia daun singkong (Hasim *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian Hasim *et al.*, (2016) ekstrak metanol daun singkong mengandung saponin, tanin, fenolik, alkaloid, dan flavonoid, dengan nilai total fenolik dan flavonoid yang paling dominan sehingga kedua senyawa inilah yang diduga berpotensi sebagai antioksidan. Kedua senyawa tersebut diketahui mampu memberikan elektron dan diikatkan pada elektron pada kulit terluar radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi stabil dan tidak lagi mengganggu sel normal (Faedah *et al.*, 2013). Penelitian tersebut juga melakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan nilai IC_{50} yang didapatkan sebesar 92,10 mg/L, nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak tergolong kuat. Salah satu senyawa flavonoid yang beraktivitas sebagai antioksidan dalam daun singkong adalah rutin (Tsumbu *et al.*, 2011). Selain itu, menurut penelitian lain yang dilakukan oleh Yura *et al.*, (2016) menggunakan ekstrak dan metode yang sama menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi dengan IC_{50} sebesar 16,06 μ g/ml.

Salah satu metode pengujian antioksidan adalah metode CUPRAC. Pada metode ini, reagen yang digunakan adalah Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-(Nc)₂) untuk mengoksidasi kromogenik sehingga dapat dilakukan pengukuran reduksi ion Cu(II). Metode ini banyak digunakan karena reagen yang digunakan berupa CUPRAC yang bersifat selektif dengan nilai potensial reduksi yang rendah sehingga mudah untuk dilakukan dan berbiaya rendah (Maryam *et al.*, 2016). Berdasarkan latar belakang nilai IC_{50} ekstrak metanol daun singkong yang kuat, yaitu 92,10 mg/L dan 16,06 μ g/mL dengan metode DPPH, maka perlu dilakukan perhitungan antioksidan dengan metode CUPRAC. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC belum dilakukan sebelumnya untuk ekstrak metanol daun singkong. Oleh karenanya, dilakukan uji antioksidan ekstrak metanol daun singkong dengan metode CUPRAC.

2. Metode

2.1 Alat

Alat pada penelitian adalah alat gelas (*Pyrex*[®]), neraca analitik (*Fujitsu*[®]), mikropipet (*Dragon Lab*[®]), seperangkat alat *rotary evaporator* (*IKFR 10*[®]), seperangkat alat maserasi, *waterbath* (*Memmert*[®]) dan spektrofotometer UV-Vis (*PG Instruments-T60*[®]).

2.2 Bahan

Bahan untuk penelitian ini berupa daun singkong, aluminium foil, *aquadest*, ammonium asetat (*Merck*[®]), asam sulfat (*Merck*[®]), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*Merck*[®]), etanol *p.a* (*Bratachem*[®]), FeCl_3 (*Merck*[®]), HCl (*Merck*[®]), kuersetin (*Sigma aldrich*[®]), metanol teknis (*Bratachem*[®]), *Neocuproine* (*Merck*[®]) dan serbuk Magnesium (*Merck*[®]).

2.3 Pengambilan sampel daun singkong

Sampel dikumpulkan pada bulan Januari 2019 dari kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan dan dideterminasi di Laboratorium Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lambung Mangkurat. Bagian tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun yang matang, yaitu daun yang terdapat pada posisi ke 4 - 7 dari pucuk tanaman dengan usia 6 bulan (Hasim *et al.*, 2016).

2.4 Pembuatan simplisia daun singkong

Sampel yang telah dikumpulkan disortasi basah, yaitu dipisahkan dari jenis daun lain ataupun pengotor yang ikut terbawa. Selanjutnya daun dicuci di bawah air mengalir, ditimbang, dirajang dan dikeringkan dengan sinar matahari secara tidak langsung memakai kain hitam. Sortasi kering kemudian dilakukan setelah semua bagian daun telah menjadi kering sempurna dan kemudian dilanjutkan proses penyerbukan. Serbuk yang dihasilkan diayak hingga halus dengan pengayakan mesh 100, lalu serbuk ditimbang, dan dicatat beratnya dilanjutkan dengan penyimpanan di wadah yang tertutup baik (Hasim *et al.*, 2016).

2.5 Pembuatan ekstrak metanol daun singkong

Ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut metanol. Awalnya, serbuk simplisia sebanyak 150 gram dimaserasi dalam 750 mL pelarut metanol dengan perbandingan (1:5) dan ditambahkan asam sulfat 5%. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan pengadukan beberapa kali lalu disaring dengan kertas saring dan remaserasi sebanyak 3 kali. Filtrat yang didapatkan selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50-60°C hingga menjadi ekstrak kental (Hasim *et al.*, 2016).

2.6 Skrining fitokimia

2.6.1. Identifikasi flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan mencampurkan 0,5 gram ekstrak kental dengan 2 mL metanol kemudian ditambahkan serbuk Mg sebanyak 2 mg dan diberikan 3 tetes HCl pekat lalu dikocok kuat. Warna merah, kuning atau jingga yang terbentuk menunjukkan sampel positif flavonoid (Purwati *et al.*, 2017).

2.6.2. Identifikasi fenol

Identifikasi fenol diawali dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak kental pada 2 mL metanol. Larutan kemudian ditambah 3 tetes larutan FeCl_3 hingga terbentuk warna hitam hijau kebiruan. Apabila warna tersebut tidak terbentuk maka sampel negatif fenol (Tiwari *et al.*, 2011).

2.7 Pengujian antioksidan secara kuantitatif dengan metode CUPRAC

2.7.1. Pembuatan larutan untuk pengujian CUPRAC

Larutan CuCl_2 dibuat dengan menimbang 0,4262 gram $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL. Serbuk kemudian dilarutkan dengan air sampai tanda batas. *Buffer* yang digunakan adalah amonium asetat pH 7 yang dibuat dengan melarutkan 19,27 gram NH_4Ac pada labu ukur 250 mL dan ditambah akuades sampai tanda. Larutan *Neocuproine* (Nc) juga dibuat dengan melarutkan 0,039 gram pada labu ukur ukuran 25 mL Nc dan diencerkan sampai tanda menggunakan etanol *p.a* (Maryam *et al.*, 2016).

2.7.2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan menambahkan larutan 0.01 M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0075 M Nc, 1 M bufer amonium asetat, etanol *p.a* masing-masing 1 dan 0,1 mL akuades dalam vial. Larutan kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Haeria, 2013).

2.7.3. Pembuatan dan pembacaan absorbansi larutan blanko

Larutan blanko Larutan 0.01 M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0075 M Nc, 1 M bufer amonium asetat, etanol *p.a* masing-masing diambil 1 mL untuk dimasukkan pada vial dan ditambah 0,1 mL akuades. Vial selanjutnya diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Larutan CUPRAC yang sudah jadi ini dituangkan kedalam kuvet dan dibaca serapan maksimumnya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang didapat pada langkah 2.7.2. (Haeria, 2013).

2.7.4. Pembuatan dan pembacaan larutan kurva baku pembanding kuersetin

Larutan stok kuersetin 1000 ppm dibuat dengan menimbang 25 mg kuesertin yang dimasukkan ke labu ukur 25 mL. Etanol *p.a* kemudian ditambahkan sampai tanda batas. Larutan stok ini selanjutnya diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara mengambil larutan stok sebanyak 2,5 mL yang diencerkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas pada labu ukur 25 mL. Larutan kurva baku 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm kemudian dibuat dengan memipet larutan kuersetin 100 ppm sebanyak

0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 mL dan 1,25 mL untuk dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL yang terpisah. Masing-masing labu ukur ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas (Haeria, 2013).

Pembacaan absorbansi dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL setiap seri larutan kuersetin dan dimasukkan ke dalam vial. Semua vial ditambah 1 ml larutan 0.01 M $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 mL 0,0075 M Nc, 1 mL 1 M bufer amonium asetat dan 0,1 mL akuades. Vial kemudian diinkubasi di ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, larutan ini dituang ke dalam kuvet dan diukur serapannya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang didapat pada langkah sebelumnya (Haeria, 2013).

2.7.5. Pembuatan larutan uji ekstrak metanol daun singkong

Larutan uji dibuat dengan melarutkan 50 mg ekstrak metanol pada etanol p.a dalam labu ukur 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (larutan stok). Larutan induk ini kemudian diambil 1,5; 3; 6; 12; dan 24 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10, 30, 60, 120, dan 180 ppm sebanyak 50 mL (Haeria, 2013). Masing-masing konsentrasi larutan uji sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan kedalam vial dan ditambah 1 mL larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01 M, 1 mL Nc 0,0075 M, 1 mL *buffer* amonium asetat 1 M dan 0,1 mL akuades. Inkubasi dan pengukuran absorbansi sampel selanjutnya dilakukan dengan cara seperti pada larutan kurva baku kuersetin (Haeria, 2013).

3. Hasil dan pembahasan

Determinasi dilakukan sebagai langkah awal pada suatu penelitian untuk mengetahui kebenaran indentitas tanaman yang akan digunakan sehingga tidak terjadi kesalahan penggunaan sampel. Hasil determinasi pada penelitian ini menyebutkan bahwa tanaman benar merupakan tanaman singkong dengan nama latin *Manihot esculenta* Crantz. Ekstrak daun singkong didapatkan dari hasil maserasi serbuk simplisia menggunakan pelarut metanol. Metode maserasi dipilih karena sederhana dan sesuai digunakan untuk simplisia yang tidak keras selain itu juga keuntungan metode maserasi adalah kerusakan pada komponen kimia sangat minimal serta cocok digunakan pada zat yang tahan panas. Maserasi dilakukan dengan dua kali remaserasi bertujuan untuk mengoptimalkan penyarian. Selama proses ekstraksi maserasi terjadi interaksi antara zat terlarut dengan pelarut, hal ini akan mendorong keluarnya zat aktif yang berada dalam sel menuju keluar sel dan terlarut dalam pelarut yang digunakan. Perpindahan ini disebut sebagai difusi yang terjadi akibat perbedaan konsentrasi zat aktif yang terdapat di luar dan di dalam sel, dan akan berulang sampai terjadinya keseimbangan (Wahyulianingsih *et al.*, 2016).

Maserasi dilakukan dengan merendam 150 gram serbuk simplisia daun singkong dalam 750 mL metanol sebagai cairan penyari dengan perbandingan (1:5) dan ditambahkan pelarut asam sulfat

5% sebanyak 0,6 ml setiap 1 kali maserasi. Pelarut metanol digunakan sebagai penyari dikarenakan menurut T s u m b u *et al.*, (2011) senyawa flavonoid pada daun singkong berupa rutin yang mengandung satu glikosida (monoglikosida). Monoglikosida ini mengakibatkan senyawa rutin lebih larut dalam metanol sedangkan pelarut asam sulfat 5% ditambahkan agar mampu menghidrolisis senyawa rutin menjadi kuersetin murni (Karimova *et al.*, 2016). Penelitian Hasim *et al.*, (2016) juga menyatakan bahwa senyawa-senyawa aktif dalam daun singkong lebih banyak terekstrak menggunakan pelarut metanol dengan metode ekstraksi maserasi dibandingkan dengan metode ekstraksi infundasi menggunakan pelarut air yaitu dapat dilihat dari hasil rendemen ekstrak metanol (1,03 dan 5,56 %) dan ekstrak air (0,89 dan 3,73 %).

Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatan menjadi ekstrak kental dengan cara menguapkan pelarut sampai ekstrak menjadi kental menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*. Proses *rotary evaporator* dan *waterbath* yang dilakukan pada suhu dibawah titik didih metanol 64,7°C. Suhu yang digunakan adalah 50 - 60°C dikarenakan untuk meningkatkan proses penguapan pelarut dan diharapkan tidak merusak senyawa antioksidan pada ekstrak (Hasim *et al.*, 2016). Tujuan pemekatan ekstrak menggunakan alat *rotary evaporator* dan *waterbath* untuk menghilangkan pelarut sehingga didapatkan bobot tetap dan nilai % randemen ekstrak daun singkong seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Randemen Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

Pelarut	Bobot Simplisia Diekstraksi (g)	Bobot Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Metanol	150	39,7615	26,5076

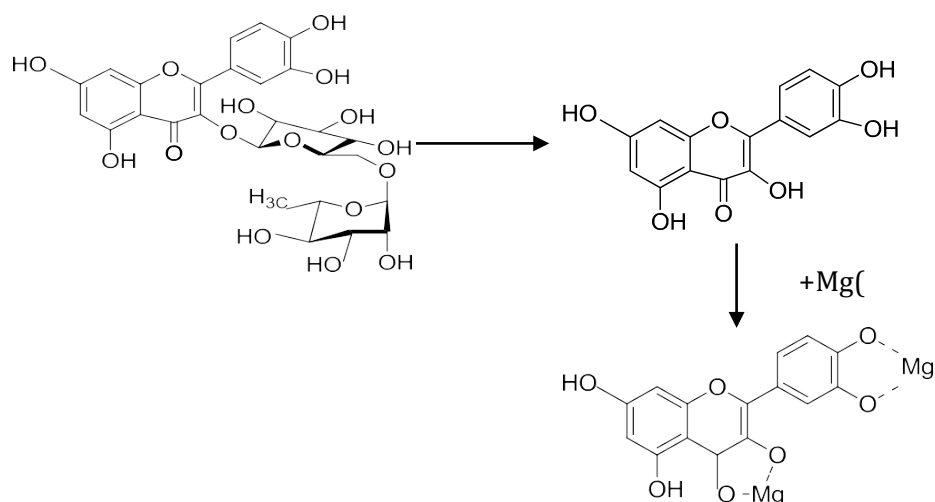
Skrining fitokimia selanjutnya dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan atau komponen yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan. Menurut Faedah *et al.* (2013), tumbuhan yang berpotensi memiliki fungsi antioksidan adalah daun singkong dengan kandungan senyawa utama berupa flavonoid dan fenolik sehingga pada uji skrining yang dilakukan adalah uji flavonoid dan fenol. Hasil uji fitokimia dapat diperlihatkan pada Tabel 3.

Pada hasil pengujian skrining fitokimia yang dilakukan pada uji identifikasi flavonoid dan fenolik, hasil yang diperoleh menunjukkan hasil positif adanya kandungan senyawa flavonoid dan fenolik yang dapat dilihat adanya perubahan warna seperti yang dituliskan oleh Purwati., *et al* (2017). Perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga memperlihatkan adanya flavonoid sedangkan warna hitam hijau kebiruan merupakan indikator adanya senyawa fenol (Tiwari *et al.*, 2011). Hasil identifikasi flavonoid dengan prinsip reaksi oksidasi reduksi ini menunjukan hasil positif. Perubahan warna terjadi karena senyawa flavonoid akan direduksi oleh hasil reaksi HCl dan Mg akan membentuk senyawa kompleks berwarna kuning merah, dan jingga. Skema reaksi rutin

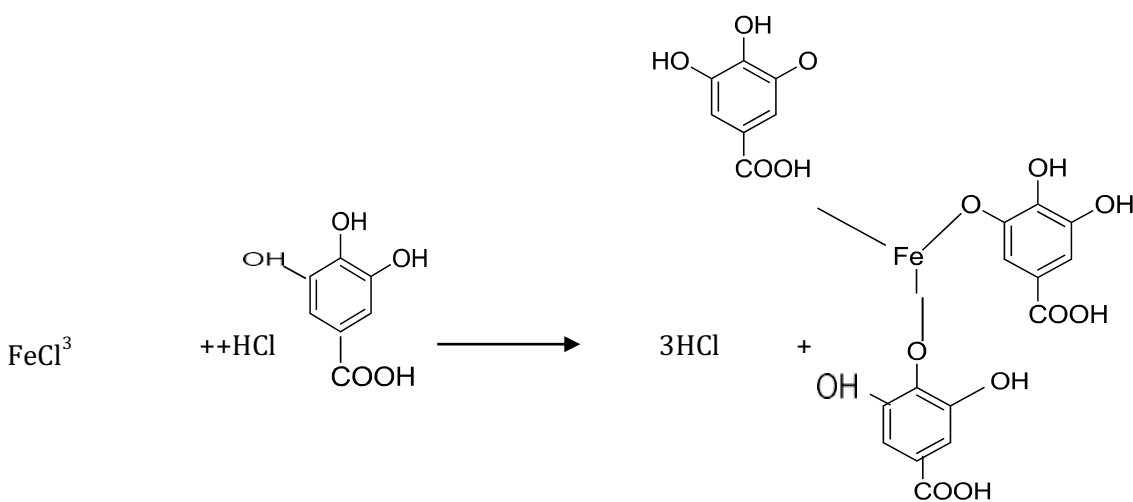
dengan HCl & Mg diperlihatkan pada Gambar 1.

Tabel.3 Hasil uji skrining fitokimia ekstrak metanol daun singkong (*M. esculenta* Crantz)

Uji	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	metanol + serbuk Mg 2mg + 3 tetes HCl	Perubahan kuning	Positif
Fenol	metanol + 3 tetes FeCl ₃	Terbentuknya warna hitam hijau kebiruan	Positif



Gambar 1. Skema reaksi rutin dengan HCl & Mg



Gambar 2. Skema reaksi fenolik dengan FeCl₃

Pada hasil pengujian fenol pada penelitian ini menunjukkan positif, yaitu dengan terbentuknya warna biru kehitaman akibat fenol yang dapat mereduksi Fe³⁺ menjadi Fe²⁺ (besi(III) heksasianoferrate)(Nugrahani, 2015). Skema reaksi fenolik dengan FeCl₃ diperlihatkan pada Gambar 2. Senyawa fenolik dan juga flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder dengan fungsi

sebagai antioksidan yang terdapat dalam daun singkong. Kedua senyawa ini dapat membantu meredakan atau menghambat aktivitas senyawa radikal bebas yang ditemukan dalam tubuh dengan mekanisme donor elektron sehingga elektron pada orbital terluar pada radikal bebas menjadi stabil (Faedah *et al.*, 2013). Metode CUPRAC dapat digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan dan mengukur kemampuan antioksidan pada suatu sampel. Kelebihan metode CUPRAC adalah sederhana, reaksi mengoksidasi antioksidan terjadi dengan cepat, reagen lebih stabil dan dapat mengukur senyawa hidrofilik dan lipofilik (Maryam *et al.*, 2016).

Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode CUPRAC reagen yang digunakan adalah *neocuproin* (Nc) yang berlaku sebagai agen pengoksidasi kromogenik dan akan membentuk senyawa kelat dengan Cu^{2+} menyebabkan terbentuknya reduksi ion Cu^{2+} -Nc yang berwarna biru. Aktivitas antioksidan dapat diukur dari kemampuan Cu^{2+} -Nc menjadi Cu^+ -Nc yang ditandai terbentuknya warna kuning. Kelat Cu^+ -Nc yang terbentuk ini stabil karena tidak mudah berubah akibat adanya perubahan lingkungan seperti udara, cahaya, ataupun pH. Perubahan warna inilah menyebabkan terjadinya perubahan nilai absorbansi akibat perubahan jumlah cahaya yang dapat diserap ketika diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Maryam *et al.*, 2016).

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Abs Blanko	Rata-rata Absorbansi	Rata-rata % Inhibisi	SD	Persamaan regresi	IC ₅₀ (ppm)
1	0,801	0,693	13,44	0,97	y = 4,1615x + 8,9221 R ² = 0,9969	9,87
2	0,801	0,664	17,35	0,31		
3	0,801	0,633	20,47	0,38		
4	0,801	0,594	26,59	0,90		
5	0,801	0,562	30,58	0,75		

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan digambarkan dengan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya konsentrasi awal sebesar 50%. Aktivitas antioksidan yang semakin baik akan ditunjukkan dengan semakin kecilnya nilai IC₅₀ (Nugraha *et al.*, 2017). Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan kontrol positif kuersetin dan ekstrak metanol daun singkong. Langkah pertama yang dilakukan adalah mencari panjang gelombang maksimum CUPRAC dan didapatkan nilai sebesar 450 nm. Panjang gelombang ini menunjukkan panjang gelombang yang memberikan serapan paling maksimal dan menunjukkan nilai kepekaan paling besar. Pengujian kuersetin dan ekstrak dilakukan dengan berbagai seri konsentrasi yang telah dilarutkan menggunakan larutan CUPRAC yang kemudian dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai aktivitas antioksidan kuersetin dapat diketahui dari Tabel 3.

Berdasarkan hasil uji antioksidan kuersetin dan ekstrak metanol daun singkong secara kuantitatif diperoleh menggunakan *Microsoft Excel* 2010 untuk menghasilkan nilai persamaan

regresi linier yang dapat digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Nilai tersebut adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mendapatkan aktivitas 50%. Perhitungan nilai IC_{50} dilakukan menggunakan data persen inhibisi yang digunakan untuk mendapatkan persamaan regresi linier $y = bx + a$ dengan konsentrasi sampel adalah x dan persen inhibisi sebagai y . Nilai IC_{50} dihitung dengan mengganti nilai y sebesar 50 untuk mendapatkan nilai x . Semakin rendah nilai IC_{50} yang didapatkan maka semakin baik aktivitas antioksidannya (Nugraha *et al.*, 2017). Hasil uji antioksidan ekstrak metanol daun singkong dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong

Konsentrasi (ppm)	Abs Blanko	Rata -rata Absorbansi	Rata - rata % Inhibisi	SD	Persamaan kurva baku	IC_{50} (ppm)
10	0,797	0,761	4,48	2,70	$y = 0,2607x + 9,7097$	154,54
30	0,797	0,620	22,21	0,38		
60	0,797	0,566	29,74	1,15		
120	0,797	0,456	42,74	0,38		
180	0,797	0,369	53,66	0,32		

Pengujian antioksidan pada kuersetin diperoleh hasil sebesar 9,87 ppm dan ekstrak metanol daun singkong sebesar 154,54 ppm. Berdasarkan hasil yang didapatkan kemampuan antioksidan ekstrak metanol daun singkong lebih rendah dibandingkan kuersetin dikarenakan kuersetin merupakan senyawa flavonol (golongan flavonoid terbesar) yang memiliki potensi biologis besar dalam tubuh dalam menangkal radikal bebas sedangkan ekstrak metanol daun singkong merupakan senyawa campuran senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang saling berinteraksi untuk menimbulkan aktivitas tertentu (Faedah *et al.*, 2013). Perbedaan nilai IC_{50} juga bisa disebabkan karena adanya kemungkinan senyawa lain yang larut dalam cairan penyari yang tidak berkhasiat sebagai antioksidan sehingga dapat mengganggu peredaman radikal bebas CUPRAC. Menurut Borges *et al.*, (2013), beberapa faktor eksternal seperti dapat mempengaruhi komponen senyawa dan konsentrasinya, termasuk komponen fenol dan flavonoid.

4. Kesimpulan

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong terkategori lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 154,54 ppm yang diukur menggunakan metode CUPRAC.

Ucapan terimakasih

Terima kasih kepada STIKES Borneo Lestari atas penyediaan fasilitas laboratorium.

Daftar pustaka

- Borges, L., Alves, S., Leite Sampaio, B., Conceição, E., Bara, M., & Paula, J. (2013). Environmental Factors Affecting the Concentration of Phenolic Compounds in *Myrcia tomentosa* Leaves. *Brazkilian Journal Of Pharmacognosy*, 23(2), 230-238. doi:10.1590/S0102-695X2013005000019
- Faezah, O. N., Aishah, H. S., & Kalsom, Y. U. (2013). Comparative Evaluation of Organic and Inorganic Fertilizers on Total Phenolic, Total Flavonoid, Antioxidant Activity and Cyanogenic Glycosides in Cassava (*Manihot esculenta*). *African Journal of Biotechnology*, 12(18), 2414-2421.
- Haeria, H. (2013). Penetapan Kadar Flavanoid Total dan Uji Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Unggu (*Graftophyllum pictum* L.) Griff. , Alauddin Makasar. Vol.1; No.1. *Jurnal Farmasi FIK Alauddin Makasar*, 1(1). doi:<https://doi.org/10.24252/jurfar.v1i1.2088>
- Hasim, H., Falah, S., & Dewi, L. K. (2016). *Effect of Boiled Cassava Leaves (Manihot esculenta Crantz) on Total Phenolic, Flavonoid and its Antioxidant Activity*, Institut Pertanian Bogor.
- Karimova, E. R., Baltina, L. A., & Abdullin, M. I. (2016). Production of Quercetin by Acid Hydrolysis of Rutin. *Vestnik Bashkirkosgo Universiteta* 21(1), 78-80.
- Maryam, S. M., Pratama, R. Y., Effendi, N., & Naid, T. (2016). Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha multifidi* L.) dengan Metode Cuprac Ion Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 2(1).
- Nugraha, A. T., Firmansyah, M. S., & Jumaryatno, P. (2017). Profil Senyawa dan Aktifitas Antioksidan Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) dengan Metode DPPH dan Cuprac. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 13(1), 14-20.
- Nugrahani, R. (2015). *Analisis Potensi Serbuk Ekstrak Buncis (Phaseolus vulgaris L.) sebagai Antioksidan*. (Magister). Universitas Mataram,
- Purwati, S., Lumowa, S. V. T., & Samsurianto, S. (2017). *Skrining Fitokimia Daun Saliara (Lantana Camara L) sebagai Peptisida Nabati Penekan Hama dan Insiedensi Penyakit pada Tanaman Hotilkultura di Kalimantan Timur*. Paper presented at the Prosiding Seminar Kimia, FMIPA Unmul.
- Tiwari, P., Kaur, M., & Kaur, H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Journal Internationale Pharmaceutical Sciencia*, 1, 103-104.
- Tsumbu, C. N., Deby-Dupont, G., Tits, M., Angenot, L., Franck, T., Serteyn, D., & Mouithys-Mickalad, A. (2011). Antioxidant and antiradical activities of *Manihot esculenta* Cranz (Euphorbiaceae) Leaves and Other Selected Tropical Gree Vegetables Investigied on Lipopperoxidation and Phorbol-12- Myristate-13-Actate (PMA) Activated Monocytes. *Nutrients*, 3(9), 818-838. doi:10.3390/nu3090818
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E. P., & Wahyuono, S. (2011). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 156-160.
- Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. (2016). Penetapan kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr dan Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3, 189. doi:<https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.221>
- Yura, S., M.I., S., & Novita, M. (2016). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenol Beberapa Jenis Bayam dan Sayuran Lain. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 1(1). doi:<https://doi.org/10.17969/jimfp.v1i1.900>

Optimization of cardamom fruit ethanol extract gel with combination of HPMC and Sodium Alginate as the gelling agent using Simplex Lattice Design

Optimasi formula gel ekstrak etanol buah kapulaga dengan kombinasi gelling agent HPMC dan Natrium Alginat menggunakan *simplex lattice design*

Wati Eliana Putri¹, Metha Anung Anindhita^{1*}

¹Program Studi S-1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Pekalongan, Pekalongan, Indonesia

*Corresponding author e-mail: anindhita.m.a@gmail.com

Abstract

Background: Cardamom has been studied and proven to be effective as an antibacterial. Gel preparations are preferred because they have advantages such as being easy to apply, providing a cooling effect and being able to deliver drugs well.

Objective: The purpose of this study was to make a gel formulation of ethanolic cardamom fruit extract by optimizing the combination of gelling agent of HPMC and sodium alginate using the simplex lattice design (SLD).

Methods: Cardamom fruit extract was obtained by extracting cardamom fruit *simplicia* using 70% ethanol. The formulation of the gel preparation from cardamom fruit extract was optimized using the SLD method on Design Expert. There were 5 gel formulas made and evaluated including organoleptic, pH, viscosity, spreadability, and adhesion. The independent variables in SLD were the amount of HMC and sodium alginate, while the responses included viscosity, spreadability, and adhesion. Optimal formula selection is done by using a numerical approach.

Results: FI (HPMC 3.75% and sodium alginate 2.75%) and FII (HPMC 3.50% and sodium alginate 3.00%) met the test criteria for all the tests performed. The optimal formula suggested by SLD is a combination of 3.53% HPMC and 2.98% sodium alginate with a desirability value of 1.00. The predicted value for each response were viscosity of 214.83 dPa.s, dispersion of 5.38 cm, and adhesion of 50.08 seconds. The optimal formula showed a dispersion value of 5.37cm. The results of the t-test indicated that the dispersion value of the observed results is not significantly different from the prediction software.

Conclusion: Based on this research, it can be concluded that the use of a combination of HPMC and sodium alginate as a gelling agent can be optimized by using simplex lattice design to obtain the optimum formula for cardamom fruit extract gel.

Keywords: gel, hpmc, sodium alginate, SLD, kapulaga

Intisari

Latar Belakang: Kapulaga telah diteliti dan terbukti dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Sediaan gel disukai karena memiliki keunggulan antara lain mudah merata bila dioleskan, memberikan efek dingin serta dapat menghantarkan obat dengan baik.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membuat formulasi sediaan gel ekstrak buah kapulaga dengan mengoptimasi penggunaan kombinasi *gelling agent* HPMC dan natrium alginat menggunakan metode *Simplex Lattice Design (SLD)*.

Metode: Ekstrak buah kapulaga diperoleh dengan mengekstraksi *simplicia* buah kapulaga menggunakan etanol 70%. Formulasi sediaan gel dari ekstrak buah kapulaga dioptimasi menggunakan metode *SLD* pada *Design Expert*. Terdapat 5 formula gel yang dibuat dan dievaluasi meliputi organoleptis, pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat. Variabel bebas pada SLD adalah jumlah HMC dan natrium alginat, sedangkan responnya meliputi viskositas, daya sebar, dan daya lekat. Pemilihan formula optimum dilakukan menggunakan pendekatan *numerical*.

Hasil: FI (HPMC 3,75% dan natrium alginat 2,75%) dan FII (HPMC 3,50% dan natrium alginat 3,00%) memenuhi kriteria uji semua pengujian yang dilakukan. Formula optimal yang disarankan *SLD* adalah kombinasi HPMC 3,53% dan natrium alginat 2,98% memiliki *desirability* 1,00 dengan prediksi viskositas bernilai 214,83 dPa.s, daya sebar bernilai 5,38 cm, dan daya lekat 50,08 detik. Pengujian

terhadap formula optimal hasil optimasi *SLD* menunjukkan nilai daya sebar 5,37cm sesuai dengan nilai respon pada *SLD*. Hasil uji-t menunjukkan nilai daya sebar hasil observasi tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan prediksi *software*.

Kesimpulan: Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan variasi HPMC dan natrium alginat sebagai *gelling agent* dalam formula gel ekstrak buah kapulaga dapat dioptimasi menggunakan *simplex lattice design*.

Kata kunci : gel, hpmc, natrium alginat, *SLD*, kapulaga

1. Pendahuluan

Bangsa Indonesia turun temurun menggunakan tanaman sebagai obat untuk pengobatan dan pencegahan beberapa penyakit. Masyarakat lebih banyak menggunakan obat tradisional karena dinilai lebih aman dan memiliki efek samping kecil (Sumayyah & Salsabila, 2017). Salah satu tanaman yang berkhasiat obat adalah kapulaga, memiliki banyak khasiat salah satunya adalah antibakteri. Kapulaga mengandung senyawa metabolit sekunder fenol, tanin, terpenoid yang mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Sukandar *et al.*, 2016)

Sediaan dalam bentuk gel banyak dipilih karena memiliki banyak keunggulan, karena dapat menghasilkan penyebaran pada kulit yang baik, pelepasan obat baik, memiliki tampilan sediaan jernih dan elegan, bila diaplikasikan akan meninggalkan film tembus pandang, mudah dicuci dan stabil pada penyimpanan (Yulia *et al.*, 2021). Pada sediaan gel, *gelling agent* adalah bahan yang berperan dalam membentuk basis gel.

HPMC adalah salah satu *gelling agent* yang merupakan derivat selulosa, memiliki viskositas yang stabil pada penyimpanan jangka panjang, namun juga memiliki kekurangan, penelitian sebelumnya oleh Fulviana (2013) dikatakan bahwa kenaikan HPMC akan menurunkan daya sebar dari sediaan gel, penurunan daya sebar sediaan gel ini merugikan untuk sediaan karena berarti kemampuan zat aktif untuk menyebar dan kontak dengan kulit semakin kecil, kriteria daya sebar sediaan gel yang baik menurut standar SNI-06-2588 adalah 5-7 cm. Konsentrasi HPMC yang digunakan sebagai acuan untuk membuat formula sama seperti pada penelitian sebelumnya oleh Fulviana (2013) berkisar 4-8%. Natrium alginat dihasilkan dari ganggang coklat dengan kandungan bahan lendir hingga 40%, gel dengan kandungan natrium alginat menunjukkan penyebaran yang sangat baik, selain itu natrium alginat memiliki sifat pelicin, tidak lengket, tidak terasa saat digunakan dan menunjukkan sifat emolien (Agoes, 2012). Konsentrasi natrium alginat sebagai *gelling agent* berkisar 2-6%.

Metode *simplex lattice design* (*SLD*), salah satu metode desain eksperimental, merupakan metode yang efektif, sederhana dan cepat dalam penggunaannya untuk membuat formula sediaan dibandingkan metode *trial and error*. Metode ini memberikan

perbandingan penggunaan *gelling agent* yang mengacu pada konsentrasi bahan yang digunakan sebagai *gelling agent*, kemudian dapat mengetahui profil efek campuran kombinasi *gelling agent* terhadap suatu parameter yakni sifat fisik gel yang dibuat (Bolton, 1997). Parameter sifat fisik yang bisa diuji seperti viskositas, daya sebar dan daya lekat, karena ketiganya menghasilkan data yang berupa nilai.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik karena terdapat kemungkinan penggunaan kombinasi HPMC dan natrium alginat dapat memberikan sifat fisik sediaan gel ekstrak etanol buah kapulaga yang memenuhi kriteria uji dan diperoleh formula optimal sediaan gel menggunakan metode SLD.

2. Metode

2.1 Bahan

Buah kapulaga, etanol 70%, FeCl₃ (Merck), HCl (Merck), H₂SO₄ (Merck), asam galat (Merck), asam tanin (Merck), terpineol, HPMC SH 90 (Bate Chemical Co.Ltd.), metil paraben (Bate Chemical Co.Ltd.), propil paraben (Bate Chemical Co.Ltd.), akuades.

2.2 Jalannya penelitian

2.2.1 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia dilakukan dengan mencuci bersih buah kapulaga basah terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran tanah dan cemaran pestisida yang menempel, sortasi basah dengan memisahkan kapulaga busuk, dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam agar proses penjemuran bisa berlangsung cepat namun kandungan senyawa tidak rusak karena terlalu panas, dijemur hingga kering yang ditandai dengan penimbangan konstan, selanjutnya dilakukan disortasi kering untuk memisahkan kapulaga yang mengalami pembusukan, kemudian dihaluskan dengan alat hingga menjadi serbuk.

2.2.2 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Proses ekstraksi dilakukan dengan memasukkan simplisia ke dalam toples kaca, ditambahkan pelarut hingga perbandingan bagian serbuk: pelarut adalah 1:3, proses maserasi selama 3 x 24 jam dengan sering dilakukan pengadukan, selanjutnya rendaman tadi disaring untuk memisahkan ampas dari filtrat. Selanjutnya filtrat ekstrak dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 60°C dengan kecepatan putaran 50 rpm hingga sedikit mengental dan dipindahkan ke cawan porselin untuk dilanjutkan pengentalan dengan *waterbath* pada suhu 60°C hingga didapat ekstrak kental.

2.2.3 Rendemen ekstrak

Perhitungan rendemen dilakukan dengan membandingkan jumlah ekstrak etanol buah kapulaga yang didapat dengan bobot simplisia awal dan mengalikannya dengan 100%, sehingga didapat presentase rendemen ekstrak.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

2.2.4 Uji kandungan senyawa metabolit sekunder

2.2.4.1 Uji fenol

Ekstrak etanol buah kapulaga sebanyak 1,5 gram dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 15 mL dan disaring menggunakan kertas saring, filtrat dipipet sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan larutan FeCl_3 1%, diamati warna larutannya. Apabila berwarna hitam kebiruan atau hijau kehitaman artinya sampel mengandung senyawa fenol. Pada pengujian ini digunakan asam galat sebagai pembanding.

2.2.4.2 Uji tanin

Ekstrak etanol buah kapulaga sebanyak 1,5 gram dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 15 mL dan disaring menggunakan kertas saring, filtrat dipipet sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi, dilakukan pemanasan selama 5 menit, kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%, dan diamati perubahan warna larutan. Apabila berwarna hitam kebiruan atau hijau kehitaman artinya sampel mengandung senyawa tanin. Pada pengujian ini digunakan pembanding berupa asam tanin.

2.2.4.3 Uji terpenoid

Ekstrak etanol buah kapulaga dilarutkan dengan pelarutnya dan disaring, filtrat dipipet sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 2 mL HCl, dilakukan penggojokan, kemudian ditambahkan H_2SO_4 sebanyak 2-3 tetes, dilakukan pengamatan warna larutan apabila muncul warna coklat kemerahan atau coklat kehijauan artinya sampel tersebut mengandung senyawa terpenoid. Senyawa terpineol digunakan sebagai pembanding pada pengujian ini.

2.2.5 Pembuatan sediaan

Sediaan gel dibuat sesuai desain pada Tabel 1 dengan memasukkan akuades panas pada mortir, dikembangkan HPMC dan natrium alginat secara terpisah, setelah membentuk fasa gel dicampurkan pada satu mortir, ditambahkan metil paraben dan propil paraben yang telah dilarutkan terlebih dahulu dengan sedikit etanol, ditambahkan ekstrak etanol buah kapulaga yang telah dilarutkan terlebih dahulu dengan akuades, selanjutnya disaring dan dicampurkan semua komponen hingga homogen. Sediaan dibuat sejumlah 30 gram untuk tiap formula.

Tabel 1. Desain formula gel ekstrak etanol 70% buah kapulaga

Kode formulasi	Proporsi (%)		Proporsi jumlah (mg)		Jumlah Metil paraben (g)	Jumlah Propil paraben (g)
	X1	X2	X1	X2		
F1	3,75	2,75	1,125	0,825	0,06	0,06
F2	3,50	3,00	1,050	0,900	0,06	0,06
F3	4,00	2,50	1,200	0,750	0,06	0,06
F4	4,25	2,25	1,275	0,675	0,06	0,06
F5	4,50	2,00	1,350	0,600	0,06	0,06

Keterangan
 X1 = HPMC
 X2 = Natrium alginat

2.2.6 Uji sifat fisik

2.2.6.1 Uji organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan dengan mengamati langsung secara visual bentuk, warna dan bau dari sediaan gel. Karakteristik sediaan gel yang diharapkan adalah berbentuk semi padat dan warna yang jernih. Kriteria uji organoleptis dari sediaan gel yang baik adalah warna, bau dan bentuk memenuhi spesifikasi bahan yang digunakan dan dapat diterima (Ansel, 1989).

2.2.6.2 Uji homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,5 gram sediaan gel dan meletakkannya pada cawan petri, kemudian ditutup dengan tutup cawan petri. Sediaan gel seharusnya homogen yang ditunjukkan dengan tidak adanya butiran serbuk bahan (Lachman *et al.*, 1994).

2.2.6.3 Uji pH

Pengujian pH dilakukan dengan menimbang 0,5 gram sediaan gel, kemudian dilarutkan dalam 50 mL akuades, dilakukan pengukuran menggunakan pH meter, hasil yang ditunjukkan oleh pH meter tersebut dicatat. Sediaan gel yang digunakan untuk diaplikasikan pada kulit seharusnya memiliki pH antara 4,5 sampai 6,5 (Naibaho *et al.*, 2013).

2.2.6.4 Uji viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan memasukkan sediaan gel pada *beaker glass* dan memasang rotor pada alat uji, dikondisikan agar rotor tercelup sediaan gel, diamati skala yang ditunjuk jarum hingga menunjukkan angka yang stabil, nilai viskositas yang baik adalah sebesar 200 sampai 400 dPa·s (Septiani *et al.*, 2012).

2.2.6.5 Uji daya sebar

Penentuan daya sebar dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 gram sediaan gel dan meletakkannya di atas cawan petri, ditutup dengan tutup cawan petri, dengan jangka

sorong diukur diameter gel, selanjutnya ditambahkan beban tambahan dengan anak timbangan 50, 100, 150, dan 200 gram. Setiap penambahan beban didiamkan dahulu selama 1 menit, kemudian diukur kembali diameter gel (Yuniarto *et al.*, 2012). Kriteria daya sebar sediaan gel yang baik adalah 5-7 cm (Voigt, 1994).

2.2.6.6 Uji daya lekat

Penentuan daya lekat dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 gram sediaan gel, meletakkannya di atas gelas objek yang menempel pada lemari kaca dan dikaitkan dengan tali, kemudian ditutup dengan gelas objek lain, memberikan beban di atasnya sebesar 1 kg selama 5 menit, setelah selesai diambil beban tersebut dan pada tali dikaitkan beban sebesar 80 gram bersamaan dengan dinyalakan *stopwatch*, dicatat waktu yang diperlukan untuk kedua gelas objek tersebut lepas. Kriteria daya lekat sediaan gel yang baik adalah lebih dari 10 detik (Voigt, 1994).

2.3 Analisis hasil

Data hasil pengujian dianalisis menggunakan *software Design Expert versi 13* menggunakan metode *simplex lattice design*. Dihasilkan 5 formula dari *simplex lattice design* dengan analisis data yang dilakukan yaitu viskositas, daya sebar dan daya lekat. Pengaruh variabel bebas terhadap respon dianalisis menggunakan ANOVA yang ada pada *simplex lattice design*. Optimasi dilakukan dengan pendekatan *numeric* sehingga didapatkan hasil formula optimal dan prediksi respon.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Hasil ekstraksi

Sebanyak 1,139 gram simplisia kapulaga yang diekstraksi, menghasilkan rendemen ekstrak 39,21 gram (3,44% b/b). Nilai rendemen dapat menunjukkan keefektifan dari proses ekstraksi yang dipengaruhi oleh penyari, ukuran simplisia, metode serta lamanya ekstraksi berlangsung. Ekstrak yang dihasilkan memiliki kadar air sebesar 9,49% sehingga memenuhi syarat kadar air dalam ekstrak yaitu kurang dari 10%. Kandungan air yang besar pada ekstrak dapat menyebabkan ekstrak mudah ditumbuhi oleh mikroorganisme.

3.2 Identifikasi metabolit sekunder

Identifikasi metabolit sekunder senyawa pada ekstrak tersaji pada Tabel 2. Pada pengujian kandungan fenol, diamati warna larutan hijau kehitaman yang artinya sampel positif mengandung senyawa fenol. Perubahan warna ini terjadi karena adanya reaksi antara senyawa fenol dengan ion Fe^{3+} yang membentuk suatu senyawa kompleks. Pada pengujian kandungan tanin, adanya warna larutan hijau kehitaman mengindikasikan

bahwa ekstrak mengandung tanin. Hal ini terjadi karena senyawa tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺.

Pada uji terpenoid diketahui warna larutan menjadi coklat kemerahan yang artinya ekstrak mengandung senyawa terpenoid. Hal ini terjadi karena kemampuan senyawa terpenoid yang akan membentuk warna dengan adanya asam H₂SO₄ pekat dalam pelarut asam klorida.

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa pada ekstrak

Pengujian	Warna larutan		Hasil
	Baku pembanding	Larutan uji	
Uji fenol	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	+
Uji tanin	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	+
Uji terpenoid	Coklat kemerahan	Coklat kemerahan	+

Keterangan

+ = menandakan ekstrak mengandung senyawa yang diuji

3.3 Sifat fisik formula

Evaluasi sifat fisik sediaan gel ekstrak etanol buah kapulaga dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji sifat fisik

Uji sifat fisik	Formula				
	F1	F2	F3	F4	F5
Organoleptis	Semi padat, kuning kecoklatan, aroma khas ekstrak kapulaga	Semi padat, kuning kecoklatan, aroma khas ekstrak kapulaga	Semi padat, kuning kecoklatan, aroma khas ekstrak kapulaga	Semi padat, kuning kecoklatan, aroma khas ekstrak kapulaga	Semi padat, kuning kecoklatan, aroma khas ekstrak kapulaga
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
pH	6,16 ± 0,11	6,46 ± 0,05	6,10 ± 0,00	6,03 ± 0,05	6,00 ± 0,00
Viskositas (dPa·s)	266 ± 14,43	206 ± 5,77	282 ± 2,88	286 ± 12,58	306 ± 5,77
Daya sebar (cm)	5,20 ± 0,08	5,35 ± 0,00	4,96 ± 0,02	4,63 ± 0,02	4,37 ± 0,12
Daya lekat (detik)	53,00 ± 0,30	50,00 ± 1,06	57,49 ± 0,23	61,40 ± 0,24	65,00 ± 0,45

Hasil uji organoleptis terhadap F1, F2, F3, F4 dan F5 menunjukkan bahwa formula tersebut memiliki sifat organoleptis yang sama yaitu bentuk sediaan semi padat, warna kuning kecoklatan dan bau khas ekstrak kapulaga (Tabel 3). Sifat organoleptis sediaan gel dihasilkan dari kombinasi bahan yang digunakan yaitu HPMC, natrium alginat, metil paraben dan propil paraben yang berbentuk serbuk sedangkan akuades berbentuk cair sehingga dengan komposisi yang tepat dapat diperoleh sediaan semi padat dengan konsistensi tertentu. Warna sediaan dihasilkan dari ekstrak kapulaga karena bahan lain berwarna putih dan tidak berwarna. Bau sediaan dihasilkan dari ekstrak kapulaga yang memiliki bau khas dan kuat sedangkan bahan lain tidak berbau.

Hasil uji homogenitas F1, F2, F3, F4 dan F5 menunjukkan semua sediaan bersifat homogen tidak ada partikel serbuk bahan (Tabel 3). Hal ini menggambarkan bahwa ekstrak dan bahan tambahan terlarut dan tercampur dengan baik sehingga memenuhi kriteria

homogenitas sediaan. Sediaan yang homogen menjamin jumlah zat aktif yang seragam pada setiap pengambilan.

Berdasarkan pengujian pH yang dilakukan seperti tersaji pada Tabel 3 diketahui bahwa nilai pH dari kelima formula memenuhi kriteria pH sediaan topikal yaitu masuk dalam rentang pH 4,5-6,5 (Draelos & Thaman, 2006). Sediaan topikal dengan pH terlalu rendah dapat mengiritasi kulit, sedangkan apabila terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit menjadi kering. Perbedaan nilai pH dari kelima formula disebabkan karena perbedaan penggunaan komposisi *gelling agent* tiap formula, HPMC memiliki rentang nilai pH 3-11 dan natrium alginat sebesar 5-10.

Hasil uji viskositas seperti yang tertera pada Tabel 3 menunjukkan bahwa viskositas dari kelima formula memenuhi kriteria viskositas yang dapat diterima yaitu dalam rentang 200-400 dPa·s (Septiani *et al.*, 2012). Viskositas sediaan menggambarkan kekentalan sediaan yang dihasilkan. Nilai viskositas yang berbeda pada tiap formula disebabkan karena perbedaan komposisi *gelling agent*. Penggunaan HPMC yang lebih banyak akan menghasilkan sediaan dengan viskositas lebih tinggi, sedangkan penggunaan natrium alginat yang lebih banyak akan menurunkan viskositas yang dihasilkan karena karakteristik natrium alginat yang licin sehingga menghasilkan sediaan yang lembut.

Hasil uji daya sebar seperti tersaji pada Tabel 3 menunjukkan hanya F1 dan F2 yang memenuhi kriteria yaitu berada dalam rentang 5-7 cm (Voigt, 1994). Daya sebar sediaan menggambarkan kemampuan penyebaran pada kulit. Daya sebar baik menjamin pemerataan saat diaplikasikan yang mana berpengaruh pada absorpsi obat, daya sebar yang rendah berarti kontak dengan kulit kecil sehingga daya hambat antibakteri tidak akan optimal. Perbedaan daya sebar tiap formula disebabkan karena perbedaan komposisi penggunaan *gelling agent*. Penggunaan HPMC yang lebih banyak menghasilkan sediaan dengan daya sebar lebih kecil dan penggunaan natrium alginat lebih banyak akan menghasilkan daya sebar lebih tinggi, hal ini karena natrium alginat yang memiliki kandungan bahan lendir 40% sehingga bersifat licin dan mudah menyebar.

Hasil uji daya lekat seperti tersaji pada Tabel 3 menunjukkan daya lekat yang dimiliki oleh kelima formula memenuhi kriteria karena sediaan dapat melekat lebih dari 10 detik (Suyudi, 2014). Daya lekat sediaan menggambarkan kemampuan melekat pada kulit, daya lekat tinggi menandakan sediaan tidak mudah hilang. Perbedaan daya lekat pada tiap formula disebabkan karena perbedaan komposisi penggunaan *gelling agent*. Penggunaan HPMC lebih banyak akan menghasilkan daya lekat lebih besar, sedangkan natrium alginat yang lebih banyak akan menurunkan daya lekat. Hal ini terjadi karena HPMC memiliki

ikatan lebih kuat sehingga dapat melekat lebih lama, sedangkan penggunaan natrium alginat lebih banyak akan menjadikan sediaan lebih licin sehingga daya lekat lebih kecil.

3.4 Optimasi formula dengan simplex lattice design

Pada penentuan formula optimum dengan metode *simplex lattice design*, parameter uji yang digunakan meliputi viskositas, daya sebar dan daya lekat gel. Data hasil pengujian ketiga parameter tersebut dimasukkan ke dalam *software* untuk menentukan pengaruh kombinasi bahan terhadap respon.

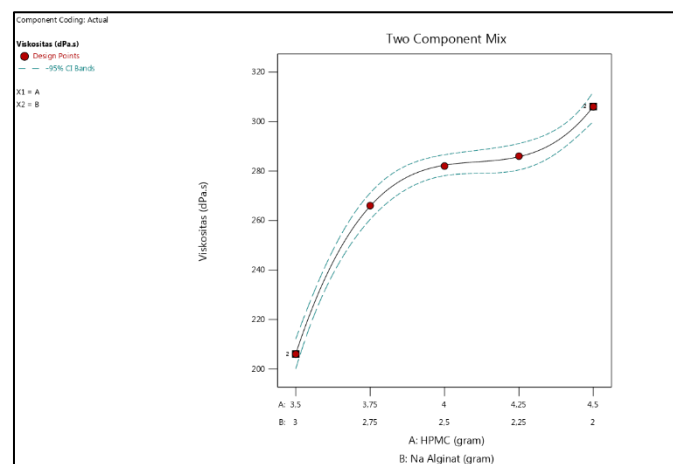
3.2.1 Viskositas

Respon viskositas dari hasil pengujian dimasukkan ke dalam *software*. Selanjutnya dilakukan analisis hasil ANOVA sehingga diperoleh hasil seperti tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji ANOVA viskositas

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	5804,57	3	1934,86	8465,00	0,0080	<i>significant</i>
<i>(1)Linear Mixture</i>	4840,00	1	4840,00	21175,00	0,0044	
AB	604,57	1	604,57	2645,00	0,0124	
AB(A-B)	360,00	1	360,00	1575,00	0,0160	
Residual	0,2286	1	0,2286			
Cor Total	5804,80	4				

Model tersebut memiliki nilai probabilitas model dengan $p\text{-value} < 0,0160$ artinya signifikan dimana peluang yang didapatkan di luar toleransi peneliti $< 0,05$. Berdasarkan nilai tersebut hanya 0,80% kemungkinan terjadi *noise*. Nilai *lack of fit* ($F\text{-value}$) sebesar 1575,00 yang menunjukkan tidak signifikan, nilai $F\text{-value}$ yang tidak signifikan adalah syarat untuk model yang baik karena menandakan adanya kesesuaian data dengan respon. Profil kurva dari model prediksi respon viskositas tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik hubungan kombinasi *gelling agent* dengan viskositas gel

Grafik pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi HPMC yang digunakan maka viskositas sediaan semakin tinggi. Nilai viskositas akan menurun seiring kenaikan konsentrasi dari natrium alginat.

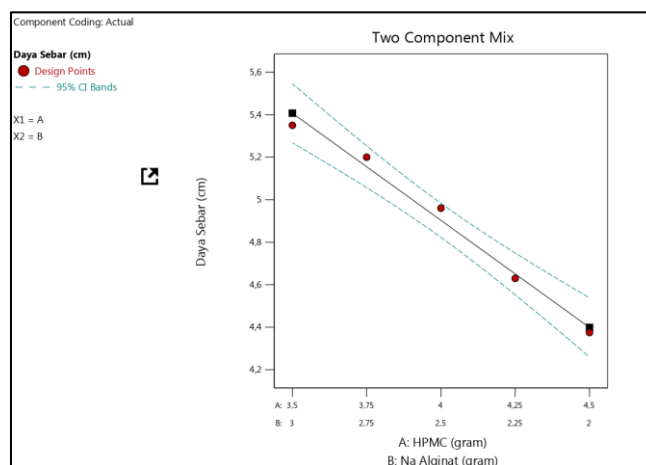
3.4.2 Uji daya sebar

Respon daya sebar dari hasil pengujian dimasukkan ke dalam *software*. Selanjutnya dilakukan analisis hasil ANOVA sehingga diperoleh hasil seperti tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji ANOVA daya sebar

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,6350	1	0,6350	199,70	0,0008	<i>significant</i>
⁽¹⁾ Linear	0,6350	1	0,6350	199,70	0,0008	
Mixture						
Residual	0,0095	3	0,0032			
Cor Total	0,6446	4				

Model tersebut memiliki nilai probabilitas model dengan *p-value* sebesar 0,0008 artinya signifikan dimana peluang yang didapatkan di luar toleransi peneliti <0,05. Berdasarkan nilai tersebut hanya 0,08% kemungkinan terjadi *noise*. Nilai *lack of fit* (*F-value*) sebesar 199,70 yang menunjukkan tidak signifikan, nilai *F-value* yang tidak signifikan adalah syarat untuk model yang baik karena menandakan adanya kesesuaian data dengan respon. Profil kurva dari model prediksi respon daya sebar tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik hubungan kombinasi *gelling agent* dengan daya sebar gel

Grafik pada Gambar 2 memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi natrium alginat yang digunakan daya sebar yang didapat semakin tinggi, sedangkan semakin tinggi konsentrasi HPMC yang digunakan menurunkan daya sebar sediaan. Penggunaan HPMC akan memberikan konsistensi yang kental sehingga konsistensi sediaan tinggi akibatnya daya sebar nya kecil. Penambahan natrium alginat membantu memperbaiki daya sebar karena natrium alginat memiliki kandungan bahan lendir sebanyak 40% sehingga bersifat licin dan mempermudah penyebarannya.

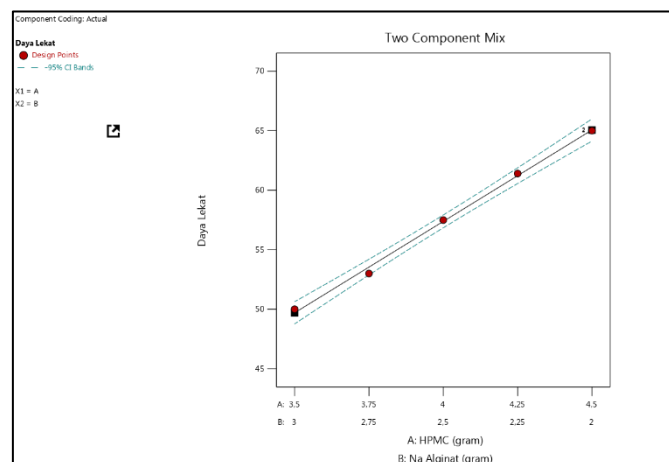
3.4.3 Uji daya lekat

Respon daya lekat dari hasil pengujian dimasukkan ke dalam *software*. Selanjutnya dilakukan analisis hasil ANOVA sehingga diperoleh hasil seperti tertera pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji ANOVA daya lekat

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	147,46	1	147,46	1029,53	< 0.0001	<i>significant</i>
⁽¹⁾ Linear Mixture	147,46	1	147,46	1029,53	< 0.0001	
Residual	0,4297	3	0,1432			
Cor Total	147,89	4				

Model tersebut memiliki nilai probabilitas model dengan *p-value* sebesar 0,0001 artinya signifikan dimana peluang yang didapatkan di luar toleransi peneliti <0,05. Berdasarkan nilai tersebut hanya 0,01% kemungkinan terjadi *noise*. Nilai *lack of fit* (*F-value*) sebesar 1029,53 yang menunjukkan tidak signifikan. Nilai *F-value* yang tidak signifikan adalah syarat untuk model yang baik karena menandakan adanya kesesuaian data dengan respon. Profil kurva dari model prediksi respon daya lekat tersaji pada Gambar 3.

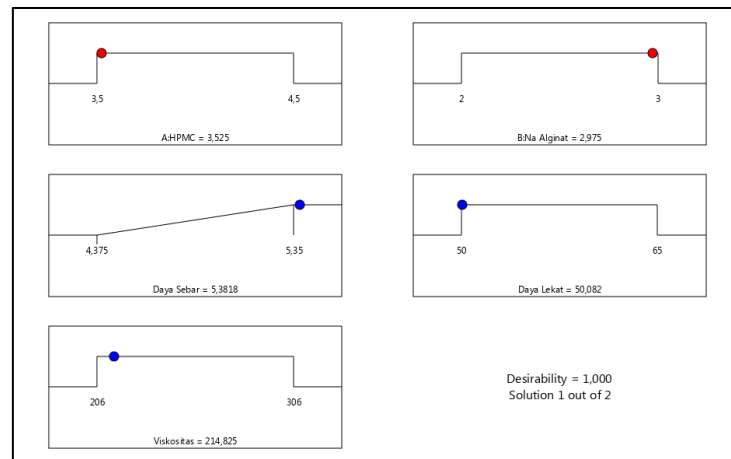


Gambar 3. Grafik hubungan kombinasi *gelling agent* terhadap daya lekat gel

Grafik pada Gambar 3 memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi HPMC maka semakin tinggi daya lekat sediaan, sedangkan semakin tinggi natrium alginat akan menurunkan daya lekat. Hal ini terjadi karena penggunaan HPMC menghasilkan sediaan dengan konsistensi kental sehingga viskositasnya tinggi dan menjadi daya lekatnya lebih lama karena lebih kuat melekat. Natrium alginat akan menurunkan daya lekat karena sifatnya yang menyerap air sehingga sediaan yang dihasilkan tidak begitu kental.

3.4.4 Formula optimal

Optimasi dilakukan menggunakan pendekatan *numeric* dengan *goal* kriteria respon yang diinginkan yaitu daya sebar yang maksimum, daya lekat dan viskositas *in range*. Hasil optimasi yang diperoleh dari *software* tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Formula yang direkomendasikan *software*

Formula optimal yang direkomendasikan oleh *software* adalah formula dengan komposisi HPMC sebesar 3,53 gram dan komposisi natrium alginat sebesar 2,98 gram dengan nilai *desirability* 1,00. Hasil menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang diinginkan mendekati sempurna.

3.5 Hasil uji formula optimal

Tabel 7. Hasil uji formula optimal

HPMC (%)	Na alginat (%)	Replikasi	Daya sebar (cm)		Daya sebar prediksi SLD (cm)
			Nilai	Mean	
3,52	2,97	F (A)	5,35	5,37	5,38
		F (B)	5,38		
		F (C)	5,38		

Keterangan
F_{X(A-C)} = Kode formula

Berdasarkan hasil pengujian daya sebar seperti tersaji pada Tabel 7 dapat disimpulkan bahwa respon percobaan sesuai dengan prediksi nilai respon daya sebar SLD. Hasil penelitian dilakukan uji-t menggunakan *Microsoft Excel* 2016 untuk mengetahui sejauh mana ketepatan prediksi *software*. Diperoleh hasil nilai t hitung sebesar -8,70031 dan t tabel sebesar 2,57058 yang artinya t hitung lebih kecil dari t tabel. Hal ini menandakan bahwa *software* dapat memprediksi dengan baik respon berupa daya sebar sediaan gel.

4. Kesimpulan

Kombinasi HPMC dan natrium alginat pada Formula 1 dan 2 menghasilkan sediaan yang memenuhi kriteria sifat fisik meliputi organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar dan daya lekat. Formula 3, 4 dan 5 tidak memenuhi kriteria daya sebar yang baik, namun memenuhi kriteria organoleptis, homogenitas, pH, viskositas serta daya lekat.

Formula gel ekstrak etanol buah kapulaga yang optimal diperoleh dengan proporsi HPMC : natrium alginat sebesar 3,52% : 2,97% dengan prediksi respon daya sebar sebesar 5,38 cm. Pengujian formula optimal menunjukkan nilai daya sebar sebesar 5,37 cm. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *simplex lattice design* dapat digunakan untuk optimasi penggunaan variasi HPMC dan natrium alginat sebagai *gelling agent* dalam formula gel ekstrak buah kapulaga.

Daftar pustaka

- Agoes, G. (2012). *Sediaan Farmasi Likuida-Semisolida* (1 ed.). Bandung: Penerbit ITB.
- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* (4 ed.). Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Bolton, S. (1997). *Pharmaceutical Process Validation* (R. A. Nash & A. H. Wachter Eds. 3 ed.): Marcel Dekker, Inc.
- Draelos, Z. D., & Thaman, L. A. (2006). *Cosmetic Formulation of Skin Care Product* (1 ed. Vol. 30): CRC Press.
- Fulviana, M. (2013). *Formulasi Sediaan Gel Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Patikan Kebo (Euphorbia hirta L.) dan Uji Aktivitas Secara In Vitro terhadap Pseudomonas aeruginosa*. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta Surakarta. Retrieved from <http://eprints.ums.ac.id/id/eprint/24186>
- Lachman, L., Lieberman, H. A., Kaning, J. L., Suyatmi, S., Kaning, L., & Suyatmi, S. (1994). *Teori dan Praktek Farmasi Industri* (2 ed.). Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Naibaho, O. H., Yamlean, P. V., & Wiyono, W. (2013). Pengaruh Basis Salep terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon*, 2(2).
- Septiani, S., Wathoni, N., & Mita, S. R. (2012). Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (*Gnetum gnemon Linn.*). *Students e-Journal*, 1(1).
- Sukandar, D., Hermanto, S., Amelia, E., & Zaenudin, M. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kapulaga (*Amomum compactum Sol. Ex Maton*). *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 17, 119-129. doi:10.14203/jkti.v17i2.28
- Sumayyah, S., & Salsabila, N. (2017). Obat Tradisional: Antara Khasiat dan Efek Sampingnya. *Majalah Farmasetika*, 2(5).
- Suyudi, S. D. (2014). *Formulasi Gel Semprot Menggunakan Kombinasi Karbopol 940 dan Hidroksipropil Metilselulosa (HPMC) sebagai Pembentuk Gel*. (Skripsi). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.
- Voigt, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (5 ed.). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Yulia, A., Esti, H., & P, T. (2021). Karakteristik Sediaan dan Pelepasan Natrium Diklofenak dalam Sisten Niosom dengan Basis Gel Carbomer 940. *PharmaScientia*, 1(1), 2.

Yuniarto, P., Rahayu, E., & Ekowati, D. (2012). Optimasi Formula Gel Buah Apel Hijau (*Pyrus malus L.*) sebagai Antioksidan dengan Kombinasi Basis Carbopol 940 dan Gliserin secara Simplex Lattice Design. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 11(2), 130-138.

Sub chronic toxicity effect of combination of herbal juice on the function and histopathology feature of male Wistar rat liver

Efek toksisitas subkronik jus herbal kombinasi (bawang putih, bunga rosella, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel dan madu) terhadap fungsi dan gambaran histopatologi hati tikus jantan galur *Wistar*

Ade Arinia Rasyad^{1*}, Aisah¹, Lidia¹, Sari Meisyayati¹

¹Program Studi S1 Farmasi, STIFI Bhakti Pertiwi, Palembang, Indonesia

*Corresponding author: adearinia74@gmail.com

Abstract

Background: Previous study found the activity of the combination herbal juice of garlic, rosella flower, red ginger, lime, apple cider vinegar, and honey lowering the blood sugar and total cholesterol levels. Along with its effectiveness, the safety profile must be addressed prior to the distribution in community.

Objective: This study aim was to determine the sub-chronic hepatotoxic effect of the combination of herbal juice

Method: This research employed 24 rats divided into four groups, namely control group (aquadest) and three treatment group administered by the combination of herbal juice at dose of 28, 14, and 7 mg/kg BW/day for 28 days. The parameters to be determined were the increased of SGOT and SGPT level and histopathological features of liver cells. It then statistically analyzed using one-way ANOVA.

Results: The administration of combination of herbal juice for 28 days at a dose of 28, 14, and 7 mg/kg BW/day did not increase SGOT level but caused significant decrease in SGPT levels as follow 20.34%, 19.39%, and 15.30% respectively. Moreover, there was no damage of liver cell based on the histopathological observation at a dose of 28 mg/kg BW/day.

Conclusion: Sub-chronic administration of combined herbal juice did not elicit hepatotoxicity in male Wistar rats

Keywords: Combination herbal juice, sub-chronic toxicity, histopathology, SGOT, SGPT

Intisari

Latar belakang: Penelitian sebelumnya membuktikan adanya aktivitas jus herbal kombinasi bawang putih, bunga rosella, jahe merah, jeruk nipis cuka apel dan madu dapat menurunkan gula darah dan kadar kolesterol total. Dalam penggunaan obat tradisional, selain efektivitasnya, keamanan menjadi poin penting untuk dibuktikan sebelum dipasarkan dimasyarakat.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hepatotoksik subkronik dari jus herbal kombinasi.

Metode: Sebanyak 24 ekor tikus dalam penelitian ini dibagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol (akuades) dan 3 kelompok yang diberi jus herbal kombinasi dengan dosis 28, 14 dan 7 mg/kgBB/hari selama 28 hari. Parameter yang diukur adalah peningkatan kadar SGOT dan SGPT serta gambaran histopatologi sel hati. Data dianalisa secara statistik dengan ANOVA satu arah.

Hasil: Pemberian jus herbal kombinasi selama 28 hari dengan dosis 28, 14 dan 7 mg/kgBB/hari tidak menyebabkan peningkatan aktifitas SGOT tetapi menyebabkan penurunan kadar SGPT secara signifikan yaitu secara berurutan sebesar 20,34 %, 19,39 % dan 15,30 %. Dari gambaran histopatologi sel hati, pada dosis 28 mg/kgBB/hari tidak ditemukan adanya kerusakan sel hati.

Kesimpulan: Pemberian subkronik jus herbal kombinasi tidak menyebabkan hepatotoksik pada tikus jantan galur Wistar

Kata kunci : Jus herbal kombinasi, toksisitas subkronik, histopatologi, SGOT, SGPT

1. Pendahuluan

Kekayaan ragam hayati Indonesia, salah satunya tanaman obat, harus dimanfaatkan dalam peningkatan kesehatan maupun ekonomi masyarakat. Sehingga kedepan dapat menjadi salah satu sumber devisa negara (Bahar, 2011). Tanaman obat merupakan salah satu alternatif dalam penyembuhan dan telah digunakan secara turun temurun. Tanaman obat dipercaya memiliki berbagai khasiat secara empiris, namun demikian untuk dapat dijadikan suatu sediaan obat harus dilakukan serangkaian pengujian (Reskianingsih, 2014).

Gerakan *back to nature* membuat penggunaan tanaman sebagai obat tradisional menjadi meningkat seiring rekomendasi organisasi kesehatan dunia *World Health Organization* (WHO) bahwa obat tradisional dapat digunakan untuk memelihara kesehatan masyarakat, mencegah dan mengobati penyakit (Madihah *et al.*, 2017). Masyarakat pada umumnya meyakini bahwa obat tradisional aman dan tidak memiliki efek samping. Meskipun sebenarnya, obat tradisional berbahan tanaman herbal mengandung berbagai zat kimia yang kompleks dan berpotensi terjadinya interaksi yang membahayakan serta menimbulkan gejala toksik. Untuk memberikan efek, tanaman obat harus dikonsumsi secara kontinyu dalam jangka waktu yang cukup lama. Hal ini menyebabkan kemungkinan adanya toksisitas subkronik maupun kronis. Suatu produk herbal harus melalui evaluasi keamanan berupa pengujian ketoksikan, untuk dapat didistribusikan secara luas di masyarakat (BPOM RI, 2010).

Dalam uji ketoksikan, selain mengamati gejala toksik yang muncul, observasi fungsi organ juga dilakukan untuk melihat keparahan efek toksik yang ditimbulkan dari suatu pemejanaan. Beberapa organ yang sering digunakan dalam pengamatan efek toksik diantaranya adalah hati, ginjal, jantung dan otak. Hati adalah organ terbesar yang berfungsi memetabolisme berbagai zat yang masuk ke dalam tubuh, termasuk di dalamnya adalah obat. Hati dapat mendetoksifikasi zat beracun yang masuk, namun beberapa zat yang awalnya tidak berbahaya saat dimetabolisme hati justru menjadi bersifat toksik. Organ hati tersusun dari hepatosit (sel-sel hati) yang mengandung enzim sebagai katalisator ataupun proses metabolisme (Lu, 1995). Kerusakan hepar dimulai dengan perlemakan hati yang *reversible* hingga nekrosis yang *irreversible*. Saat terjadi nekrosis hepatosit, beberapa enzim akan dilepaskan ke ekstrasel. Oleh karenanya fungsi hati dapat diamati dengan deteksi enzim hati yang ada di serum (Baron, 1990; Sari, 2016).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi obat alternatif dalam penanganan gangguan hepar. Kombinasi bawang putih, bunga rosella, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel dan madu yang memiliki kandungan senyawa aktif kimia berupa flavonoid, terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol sebesar 22,6% pada dosis 5,4 ml/kgBB tikus (Meisyayati *et al.*, 2021). Lebih lanjut,

berdasarkan hasil penelitian Afriandi (2017), jus herbal kombinasi tersebut pada dosis 7,8 ml/kgbb mencit juga dapat menurunkan gula darah sebesar 50,68%. Terkait profil kemanannya, penelitian Fitriani (2018) menjelaskan bahwa jus herbal kombinasi bawang putih, bunga rosella, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel, dan madu mempunyai nilai LD₅₀ sebesar 120,16 g/kgBB pada pengujian ketoksikan akut. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi jus herbal praktis tidak toksik. Meskipun demikian, penggunaan obat herbal yang membutuhkan durasi cukup panjang menjadikan evaluasi keamanan jangka panjang menjadi penting untuk dilakukan. Oleh karenanya, penelitian ini ditujukan untuk melihat profil keamanan kombinasi jus herbal secara subkronik menggunakan hewan uji tikus jantan galur Wistar terhadap fungsi dan gambaran histopatologis hati.

2. Metode

2.1. Persiapan hewan uji

Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur *Wistar* berumur 2-3 bulan, 180-200 gram dan dalam keadaan sehat, diaklimatisasi selama 7 hari dengan pemberian makan dan minum *ad libitum*. Selama aklimatisasi, dipastikan bobot tikus tidak berubah > 10%. Pada akhir penelitian, seluruh hewan uji diterminasi dengan dislokasi leher.

2.2. Pembuatan jus herbal

Tabel. 1. Formula jus herbal kombinasi

No	Bahan	Jumlah dalam 15 ml
1	Sari bawang putih	1 ml
2	Sari jahe merah	3 ml
3	Sari jeruk nipis	1 ml
4	Cuka apel	1 ml
5	Madu alami	7 ml
6	Sari bunga rosella	2 ml

Pembuatan jus herbal diawali dengan cara pembersihan masing-masing bahan yaitu bawang putih, jahe merah, dan jeruk nipis dari kulitnya. Untuk bunga rosella, dibersihkan bagian bunganya untuk diambil bagian kelopaknya. Sebanyak masing-masing 1kg bahan, dilakukan pencucian dengan air mengalir dan diekstraksi menggunakan *juice extractor*. Setelah homogen, sari bawang putih, bunga rosella, jahe merah, dan jeruk nipis dipanaskan selama ± 5 menit dengan suhu 40°-50°C. Cuka apel dan madu ditambahkan setelah dingin dan diaduk hingga homogen.

2.3. Uji ketoksikan subkronik

Dalam pengujian ketoksikan, tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 3 kelompok perlakuan (variasi dosis 7,14, 28 mg/kg BB) dan 1 kelompok kontrol normal (diberi akuades). Pada hari ke-0, sebelum dimulai perlakuan, tikus ditimbang berat badannya dan dipuasakan selama 8 jam. Pada hari

ke-1, perlakuan dimulai dengan pemberian perlakuan sesuai kelompoknya secara per oral. Perlakuan diberikan sehari sebanyak 3x setiap 3 jam selama 18 hari. Hewan uji yang mati selama perlakuan dan sebelum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera dinekropsi untuk diisolasi organ hati dan selanjutnya dibuat preparat histopatologis (BPOM RI, 2010).

2.4. Pemeriksaan SGOT dan SGPT

Pada hari ke 29, darah tikus diambil melalui pembuluh vena leher, dimasukkan kedalam tabung sentrifus dan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm (10 menit) untuk diambil serumnya. Penetapan kadar SGOT dan SGPT dilakukan dengan alat Biosistem A 15 pada panjang gelombang 340 nm. Pemeriksaan dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Daerah Sumatera Selatan.

2.5. Pembuatan preparat histopatologis hati tikus

Setelah penetapan kadar SGOT dan SGPT, tikus diterminasi dan diisolasi organ hatinya. Selanjutnya, organ yang diisolasi dibersihkan dengan NaCl 0,9 %, direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Proses selanjutnya berupa pemotongan dan pewarnaan HE agar sel-sel hati dapat diamati dengan mikroskop. Pengamatan yang dilakukan berupa struktur dari hepatosit yang normal maupun yang telah mengalami perubahan, yaitu nekrosis. Tahapan ini dilakukan di laboratorium khusus patologi anatomi Dyanitalis Palembang.

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Hasil rendemen jus herbal kombinasi

Pada proses ekstraksi, dilakukan pemanasan 40°-50°C yang bertujuan untuk membunuh bakteri yang terikut dan menghindari kontaminasi selama proses penyarian. Penambahan cuka apel dan madu setelah sari jus dingin dikarenakan cuka apel dapat menimbulkan bau yang menyengat saat dipanaskan dan enzim pada madu akan menjadi rusak karena terdenaturasi (Noviyanti & Ardiningsih, 2012). Pada akhir tahapan ekstraksi, dihasilkan rendemen ekstrak berturut-turut sebesar 23,4; 48,0; 52,0 dan 50,0%.

3.2. Kadar SGOT dan SGPT setelah pemberian jus herbal kombinasi

Hasil penetapan kadar SGOT dan SGPT pada tikus jantan galur Wistar tertuang pada tabel 2 berikut.

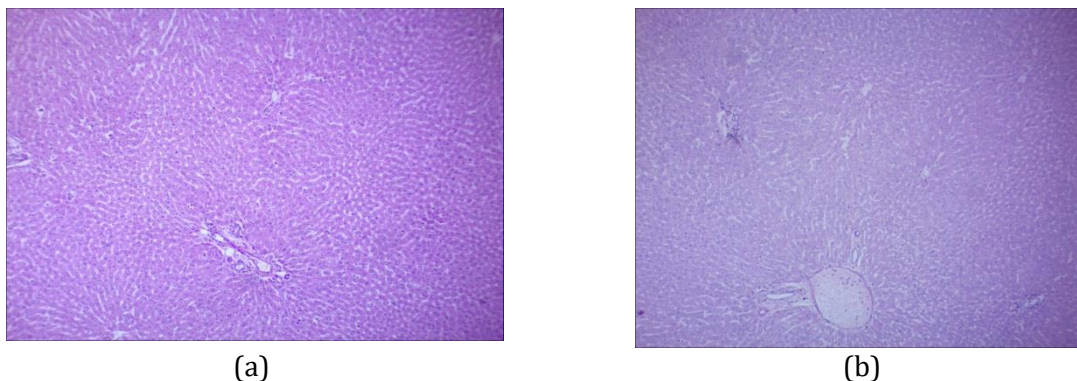
Tabel 2. Kadar SGOT dan SGPT setelah 28 hari pemberian jus herbal kombinasi

No	Kelompok	Nilai rerata SGOT ± SD (UI/L)	Nilai rerata SGPT ± SD (UI/L)
1	Kontrol	299,20 ± 15,28	114,96 ± 15,28
2	28 ml/kgBB	300,59 ± 95,26	91,57 ± 20,68
3	14 ml/kgBB	299,10 ± 57,26	92,66 ± 9,64
4	7 ml/kgBB	335,29 ± 62,59	97,36 ± 8,95

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa kadar SGOT antar kelompok perlakuan hampir sama dan tidak berbeda bermakna ($p < 0,05$). Namun demikian, nilai SGOT seluruhnya pada rentang normal 70-400 UI/L (God, 1992) dan dapat disimpulkan bahwa pemberian jus herbal kombinasi tidak memberikan efek pada nilai SGOT. Sedangkan pada nilai SGPT terlihat bahwa ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan jus herbal dengan kontrol ($p < 0,05$), meskipun antar dosis pemberiannya tidak berbeda signifikan dan masih masuk rentang normal 25-200 UI/L (God, 1992). Terjadinya penurunan ini diduga karena adanya kandungan flavonoid pada jus herbal kombinasi yang bersifat antioksidan kuat. Senyawa organosulfur dan fenolik sebagai antioksidan yang terdapat dalam kandungan bawang putih memegang peranan penting dalam mencegah kerusakan sel dan organ organ radikal bebas (Prasanto *et al.*, 2017) yang sejalan dengan fungsi antioksidan dari masing-masing bahan yang lain.

3.2. Gambaran histopatologi

Hasil pembacaan preparat histopatologik sel hepar dibawah mikroskop terlihat pada Gambar 2 dibawah.



Gambar 2. Gambaran histopatologi Setelah pemberian jus herbal dosis 28 mg/kgBB/hari selama 28 hari

Keterangan : (a) = Setelah pemberian akuades terlihat normal
(b) = Setelah pemberian jus herbal kombinasi pada dosis 28 mg/kgBB/hari terlihat tidak adanya nekrosis

Pengamatan dilakukan pada hepar tikus yang mendapat dosis tertinggi jus herbal kombinasi, yaitu 28 mg/kgBB dan tikus normal. Dengan perbesaran 400x setelah pewarnaan HE, tampak bahwa hepar perlakuan maupun normal tidak ada perubahan maupun kerusakan sel. Sel-sel hepar (hepatosit) tampak normal, tidak ada degenerasi hidropik, melemap, maupun nekrosis. Kandungan flavonoid pada jus herbal kombinasi dapat mengaktifkan sel kuffer untuk meregenerasi sel hati, dan terdapat kandungan melatonin dalam jahe merah yang dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas penyebab kerusakan hati (Pertiwi & Widyaningsih, 2015). Hasil ini sejalan dengan penelitian

menggunakan bahan herbal yang terbukti memberikan efek hepatoprotektor. Penelitian Astuti dkk (2016) membuktikan efek hepatoprotektor infusa akar tawas terhadap mencit dengan dosis 30 % memberikan nilai SGPT dan SGOT yang lebih rendah dibandingkan kontrol. Penelitian lain oleh Panjaitan dkk (2011) menunjukkan adanya aktifitas hepatoprotektor ekstrak metanol akar pasak bumi dapat menekan kadar alanin transaminase (ALT/ SGOT) dan aspartat transaminase (AST/ SGPT) dalam serum dibandingkan kontrol yang diperkuat dengan gambaran histopatologi sel hati yang mengalami perbaikan. Selain itu, berdasarkan penelitian Iralawati dkk (2012), menyatakan bahwa jus belimbing manis memiliki efek hepatoprotektor terhadap penurunan kadar SGOT dan SGPT yang telah diinduksi oleh rifampisin dan isoniazid. Oleh karenanya, jus herbal kombinasi bawang putih, bunga rosella, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel dan madu tidak menyebabkan ketoksikan dilihat dari parameter enzim hati maupun gambaran histopatologis sel hati.

4. Kesimpulan

Pemberian jus herbal kombinasi bawang putih, bunga rosella, jahe merah, jeruk nipis, cuka apel, dan madu hingga dosis 28 mg/kgBB tidak menyebabkan ketoksikan sub-kronik tikus jantan galur *Wistar* berdasarkan parameter nilai SGPT dan SGOT, serta gambaran histopatologis hepar.

Ucapan terimakasih

Terimakasih banyak penulis haturkan kepada ketua Yayasan Notari dan Ketua STIFI Bhakti Pertiwi atas bantuan dana, tempat dan peralatan sehingga terlaksananya penelitian ini. Terimakasih juga kepada Balai Besar Laboratorium Kesehatan Daerah Sumatera Selatan dan Laboratorium Khusus Patologi Anatomi Dyanitalis Palembang atas fasilitas dan bantuan Analisa Patologi Anatominya sehingga penulis bisa menyimpulkan hasil penelitian ini dengan data-data yang akurat dan bisa dipertanggung jawabkan.

Daftar pustaka

- Afriandi, A. (2017). *Uji Efek Antidiabetes Jus Herbal Kombinasi (Bunga rosella, JaheMerah, Jeruk Nipis, Cuka Apel, dan Madu) pada Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Aloksan* (Skripsi). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Palembang.
- Astuti, K. I., Anwar, K., & Biworo, A. (2016). Uji Aktivitas Infusa Akar Tawas Ut (*Ampelocissus rubiginosa* L.) Sebagai Hepatoprotektor Terhadap Mencit Putih Jantan Balb/C yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄). *Jurnal Pharmascienv* 3(2), 57-63.
- Bahar, N. W. (2011). *Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Daun Katuk (Sauropus androgynus (L) Merr) terhadap Gambaran Hematologi pada Tikus Putih Laktasi* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor. Retrieved from <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/52332>
- Baron, D. N. (1990). *Kapita Selekta Patologi Klinik* (P. Adrianto & J. Gunawan, Trans. 4 ed.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- BPOM_RI. (2010). *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta Direktorat Obat Asli Indonesia
- Fitriani, M. (2018). *Toksisitas Akut Jus Herbal Kombinasi (Bawang Putih, Bunga Rosella, Cuka Apel, Jahe Merah, Jeruk Nipis, dan Madu) terhadap Mencit Putih Betina*. (Skripsi). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Palembang.
- God, S. C. (1992). *Animal Models in Toxicology*. New York: Marcel Dekker.
- Iralawati, A. D., Hermayanti, D., & Syafitri, F. (2012). Jus belimbing Manis (Averrhoa carambola) sebagai Hepatoprotektor pada Tikus Putih (Rattus norvegicus Strain Wistar) yang Diinduksi Antituberkulosis Rifampisin dan Isoniazid. *Jurnal Veteriner*, 8(2), 127-134.
- Lu, F. C. (1995). *Asas, Organ Sasaran, dan Penelitian Resiko* (E. Nugroho, Trans. 2 ed.): UI Press.
- Madiah, M., Ratningsih, N., Malini, D. M., Faiza, A. H., & Iskandar, J. (2017). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol (Archidendrom pauciflorum) terhadap tikus Wistar Betina. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indom*, 3, 33-38. doi:10.13057/psnmbi/m030107
- Meisyayati, S., Risa, M., Juniati, H., Herpi, J., Imanda, Y. L., Isomarina, R., & Sriwijaya, R. A. (2021). *The Effect of Some Herbal Juice Formula on Serum Total Cholesterol Level of High Lipid Diet-PTU Rats*. Paper presented at the Proceedings of the First International Conference on Health, Social Sciences and Technology (ICoHSST 2020).
- Noviyanti, T., & Ardiningsih, P. (2012). Pengaruh Temperatur terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansakng (Pycnarrhena cauliflora Diels). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1), 31-33.
- Panjaitan, R. G. P., W, M., Handharyani, E., & Chairul, C. (2011). Aktifitas Hepatoprotektor Ekstrak Metanol Akar Pasak Bumi dan Fraksi-Fraksi Turunanya. *Jurnal Veteriner*, 12(4), 319-325.
- Pertiwi, P. A., & Widyaningsih, W. I. (2015). The Effect Ethanol Extract of Ulva Lactuca l on SGOT-SGPT Activity in Rat. *Traditional Medicine Journa*, 20(1), 1-6.
- Prasonto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum). *ODONTO : Dental Journal*, 4, 122. doi:10.30659/odj.4.2.122-128
- Reskianingsih, A. (2014). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah Phaleria Macrocarpa (Scheff) Boerl terhadap Larva Artemia Salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Sari, P. A. M. (2016). *Ketoksikan Akut Kombinasi Ekstrak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L) dan Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) dengan Parameter Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus)*. (Skripsi). Fakultas Farmasi Universitas Jember, Jember.

The study of drug interaction on pneumonia patients at RSUP Dr. M. Djamil Padang

Studi interaksi obat pada pasien balita dengan pneumonia di RSUP Dr. M. Djamil Padang

Lola Azyenela^{1*}, Mimi Aria¹, Lana Aristya¹

¹Prodi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Padang, Indonesia

*Corresponding author: lolaazyenela2@gmail.com

Abstract

Background: Pneumonia is one of the diseases that cause high rates of toddler deaths in the world. In Indonesia, pneumonia is the second cause of death of infants and toddlers after diarrheal diseases. Most pneumonia patients are treated with other diseases so many pneumonia patients receive more than two types of drugs in one prescription, this has the potential for drug interactions with drugs.

Objective: The aim of this study was to look at potential occurrences of drug interactions in toddler patients at Dr.M. Djamil Padang Hospital hospitalized in 2019.

Methods: This research was nonexperimental research design with cross-sectional descriptive methods of analysis and the data retrieved retrospectively. The patient's medical records were analyzed using the Drugs.com software and Medscape.

Results: There were 62 patients who met the inclusion criteria. Among them, there were 5 pneumonia patients (8.1%) who experienced drug interactions with drugs, with the pharmacokinetic category as many as 3 cases (42.9%) affecting metabolism and drug interactions in the pharmacodynamic category by 4 cases (57.1%). Based on the severity of drug interactions, this study found 1 minor case (14.3%), 5 moderate cases (71.4%), and 1 major case (14.3%).

Conclusion: From the results of the study it can be concluded that there was a potential for drug interactions in pneumonia toddler patients at Dr.M. Djamil Padang Hospital in the period 2019.

Keywords: Bronchopneumonia, drug Interactions, toddler

Intisari

Latar belakang: Pneumonia merupakan penyakit infeksi saluran pernapasan penyebab kematian utama pada balita di seluruh dunia. Di Indonesia, pneumonia menduduki peringkat kedua penyebab kematian bayi dan balita setelah diare. Pneumonia dapat disebabkan karena bakteri yang menyerang saluran pernapasan. Tatalaksana terapi pada pneumonia umumnya kombinasi beberapa obat. Hal ini berpotensi menimbulkan masalah pengobatan khususnya interaksi obat.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk melihat kejadian interaksi obat pada pasien balita di instalasi rawat inap anak RSUP Dr. M. Djamil tahun 2019.

Metode: Desain penelitian yang digunakan adalah *cross-sectional* deskriptif dengan pengambilan data secara retrospektif melalui rekam medis pasien. Setiap jenis obat yang tertulis rekam medis dianalisis dengan menggunakan bank data dari *software Drug.com* dan *Medscape*.

Hasil: Data diambil dari 62 pasien, berdasarkan jumlah tersebut dapat diidentifikasi 5 pasien mengalami interaksi obat (8,1%), terdiri dari 71,4% moderat, 14,3% minor dan 14,3% mayor.

Kesimpulan: Interaksi obat yang sering terjadi pada pasien balita dengan pneumonia adalah penggunaan kaptopril dengan furosemid.

Kata kunci: Balita, interaksi obat, pneumonia

1. Pendahuluan

Pneumonia merupakan penyebab utama kematian balita di dunia. Setiap tahun diperkirakan lebih dari 2 juta balita meninggal karena pneumonia. Data WHO melaporkan bahwa terdapat 156 juta kasus baru pneumonia anak diseluruh dunia, 61 juta kasus yang terjadi di

wilayah Asia Tenggara (WHO, 2013). Di Indonesia, dari tahun 2015-2018 penemuan kasus pneumonia pada balita mengalami peningkatan sekitar 3% dari 94,12% menjadi 97,30% (Kemenkes RI, 2018).

Tingginya morbiditas dan mortalitas pneumonia diberbagai negara berdampak pada penentuan strategi terapi bagi pasien. Penggunaan terapi yang tepat pada pasien akan menentukan keberhasilan terapi pneumonia. Terapi utama pada penanganan pneumonia adalah antibiotik yang ditujukan untuk mengeradikasi bakteri penyebab pneumonia. Selain penggunaan antibiotik, penderita pneumonia juga akan diberikan beberapa obat lainnya sebagai terapi pendukung guna mencapai keberhasilan terapi (Suharjono *et al.*, 2009). Banyaknya penggunaan obat yang diberikan dapat menimbulkan permasalahan terapi pengobatan salah satunya adalah risiko interaksi obat. Interaksi obat adalah keadaan dimana, efek suatu obat diubah akibat adanya obat lain, semisal obat herbal, makanan, minuman atau agen kimia lainnya dalam suatu lingkungan (Baxter, 2008).

Permasalahan mengenai interaksi obat pada pasien rawat inap harus mendapatkan perhatian serius karena dapat meningkatkan toksisitas atau mengurangi efektivitas dari obat. Hasil penelitian Astiti (2017) menemukan ada 58,3% pasien rawat inap yang mendapatkan efek samping merugikan yang disebabkan oleh interaksi obat (Saula, 2019). Informasi mengenai interaksi obat akan membantu tenaga kesehatan untuk mengidentifikasi dan mencegah reaksi yang tidak dikehendaki dari penggunaan obat serta meningkatkan *patient safety*. Penelitian mengenai interaksi obat sudah banyak dilakukan namun sebagian besar dilakukan untuk pasien dewasa, sedangkan penelitian pada anak-anak masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kejadian interaksi obat pada pasien balita dengan *pneumonia* di Instalasi Rawat Inap Anak RSUP Dr. M. Djamil Padang.

2. Metode

2.1. Jenis dan desain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian non-eksperimental, dengan menggunakan rancangan *cross-sectional* deskriptif dan pengambilan data secara retrospektif dari bulan Januari hingga Desember 2019. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komite Etik Penelitian Kesehatan RSUP Dr. M. Djamil Padang, dengan Nomor 223/KEPK/2020 dan izin penelitian dari Direktur Utama RSUP Dr. M. Djamil Padang.

2.2. Populasi dan sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua pasien anak yang dirawat inap, dan didiagnosa pneumonia di RSUP. Dr. M. Djamil Padang. Sampel pada penelitian ini adalah semua pasien anak yang dirawat inap dan didiagnosa pneumonia di RSUP. Dr. M. Djamil Padang pada

tahun 2019 yang memenuhi kriteria inklusi yaitu pasien usia balita (0-5 tahun) dan pasien yang mendapatkan minimal 2 jenis item obat dan menjalani rawat inap di RSUP Dr. M. Djamil Padang pada tahun 2019, dengan teknik sampling adalah total sampling.

2.3. Analisa Data

Data dianalisa dengan menggunakan *software Drugs.com* yang terdapat pada *website* https://www.drugs.com/drug_interactions.html dan *Medscape.com* di <https://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>, untuk melihat interaksi obat yang terjadi. Data interaksi obat di analisa secara deskriptif, serta dilakukan pengelompokan jenis interaksi obat yang terjadi beserta tingkat keparahannya.

3. Hasil dan pembahasan

Pada bulan Januari sampai Desember 2019, terdapat 88 pasien balita yang terdiagnosa pneumonia di RSUP Dr. Djamil Padang, namun 19 data pasien dieklusi karena ada informasi didalam rekam medis tidak terbaca dan terisi dengan lengkap sehingga diperoleh 69 data pasien yang memenuhi kriteria inklusi penelitian. Berdasarkan data karakteristik pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pasien laki-laki lebih banyak yaitu 66,67 % dibandingkan perempuan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa persentase pasien laki-laki yang didiagnosa pneumonia lebih banyak dari pada pasien perempuan, seperti penelitian Kaunang CT (2016) di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado periode 2013-2015 yang melaporkan dari 158 kasus anak, sebanyak (55,7%) adalah pasien laki-laki. Begitu juga halnya dengan penelitian lain melaporkan bahwa dari 83 kasus pneumonia pada anak, 67,5% diantaranya adalah pasien laki-laki (Balakrishnan, 2014). Jenis kelamin merupakan salah satu faktor resiko penyakit pneumonia, menurut Sunyataningkamto anak laki-laki lebih beresiko menderita pneumonia, karena ukuran saluran pernapasan anak laki-laki lebih kecil dibandingkan anak perempuan serta daya tahan tubuh anak perempuan lebih tinggi dibandingkan laki-laki (Hartati, 2012).

Sementara itu, berdasarkan usianya, didominasi pada usia 1 sampai 12 bulan (63,77%). Usia kurang dari 1 tahun memiliki kekebalan tubuh yang belum sempurna, sehingga berpotensi lebih besar untuk terpapar penyakit saluran pernafasan diantaranya pneumonia. Saluran pernafasan yang belum sempurna menyebabkan meningkatnya jumlah bakteri patogen pada saluran pernafasan. Hasil penelitian menyatakan bahwa sebanyak 48% usap tenggorokan pada anak usia kurang dari 2 tahun terdapat bakteri *Streptococcus pneumoniae*, yang merupakan bakteri utama penyebab pneumonia (Price *et al.*, 2006 ; Soewignjo *et al.*, 2001).

Tabel 1. Karakteristik umum pasien

Karakteristik	Jumlah (%)
Jenis Kelamin	
Laki-laki	46 (66,67)

Karakteristik	Jumlah (%)
Perempuan	23 (33,33)
Umur	
1-12 bulan	44 (63,77)
13-24 bulan	18 (26,09)
25-36 bulan	4 (5,79)
37-48 bulan	3 (4,35)
Jumlah Obat per Pasien	
2-5	48 (69,56)
6-8	20 (28,98)
>8	1 (1,44)
Lama Rawatan	
<5 hari	8 (11,59)
5-10 hari	39 (56,52)
>10 hari	22 (31,88)
Jumlah Penyakit Penyerta	
Tanpa penyakit penyerta	10 (14,49)
1-3	25 (36,23)
>3	34 (49,27)

Jumlah item obat dalam satu resep adalah salah satu faktor yang penyebab terjadinya interaksi obat, pada penelitian ini sebagian besar jumlah obat yang diterima pasien berkisar antara 2 sampai 5 item obat (69,56%) per pasien. Penggunaan obat yang lebih dari 3 jenis obat perpasien akan meningkatkan risiko terjadinya interaksi obat. Hal ini menunjukkan terjadinya polifarmasi dengan kategori minor. Polifarmasi kategori minor ditandai dengan adanya 2 sampai 4 obat dalam satu lembar resep (Herdaningsih S, 2016). Sebanyak 34 orang pasien (49,27%) memiliki lebih dari 3 penyakit lain selain penyakit bronkopneumonia, diantaranya adalah penyakit penyakit jantung bawaan sianotik, hipotiroid kongenital, *syndrome down*, hernia umbilikal, *sindrom epilepsy*, *cerebral palsy* dan penyakit lainnya.

Tabel 2. Pola penggunaan obat pada pasien balita dengan pneumonia di RSUP Dr. Djamil Padang pada tahun 2019

No	Terapi obat yang diterima pasien selama rawatan	Jumlah (f)	Persentase (%)
1.	Ambroxol	8	3,11
2.	Ampicillin	63	25,7
3.	Azitromisin	5	1,94
4.	Sefiksim	2	0,77
5.	Sefotaksim	1	0,38
6.	Seftazidim	1	0,38
7.	Seftriakson	7	2,72
8.	Deksametason	35	13,61
9.	Gentamicin	50	19,45
10.	Kloramfenikol	16	6,22
11.	Meropenem	4	1,55
12.	N-asetilsistein	2	0,77
13.	Parasetamol	40	15,56
14.	Vankomisin	1	0,38
15.	Kaptopril	7	2,72
16.	Furosemid	7	2,72

No	Terapi obat yang diterima pasien selama rawatan	Jumlah (f)	Persentase (%)
17.	Fenobarbital	4	1,55
18.	Spirolakton	4	1,55
Total		257	100

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa antibiotik yang paling banyak digunakan untuk pasien balita dengan pneumonia adalah ampicillin sebanyak 40,94 %. Ampicillin merupakan antibiotik lini pertama untuk bayi dengan umur lebih dari 2 bulan (Pedriatric, 2012). Menurut Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI), amoksisilin merupakan antibiotika pilihan pertama untuk anak usia kurang dari 5 tahun karena efektif melawan sebagian besar patogen yang menyebabkan pneumonia pada anak, ditoleransi dengan baik dan murah, selain itu penggunaan antibiotik ampicillin juga dianjurkan untuk terapi empirik pada anak (IDAI, 2009).

Tabel 3. Distribusi kejadian interaksi obat pada pasien balita pnemonia berdasarkan jenis interaksi dan tingkat keparahan

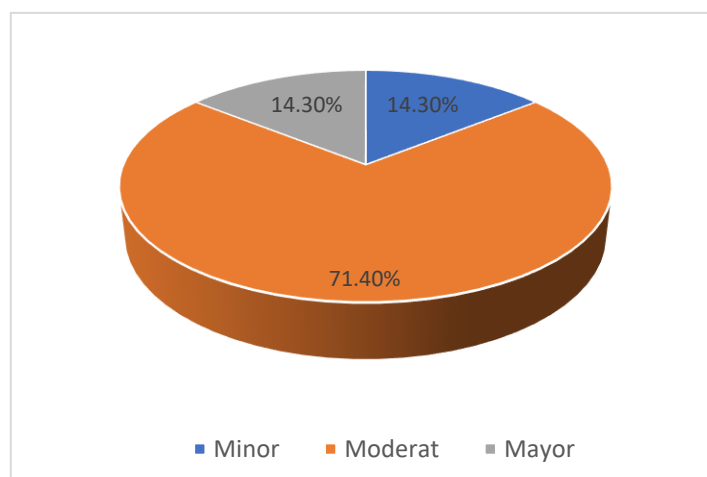
No	Interaksi obat	Jenis interaksi	Tingkat keparahan	Jumlah
1.	Kaptopril dan Furosemid	Farmakodinamik : Meningkatkan efek hipotensi (drugs.com)	Moderate	2
2.	Kaptopril dan Asetozolamid	Farmakodinamik: Meningkatkan efek hipotensi (drugs.com)	Moderate	1
3.	Kaptopril dan Spirolakton	Farmakodinamik: Menggunakan kaptopril dengan spironolakton berpotensi meningkatkan jumlah kalium darah (drugs.com)	Moderate	1
4.	Kaptopril dan Fenobarbital	Farmakokinetika: Fenobarbital dapat menurunkan kadar kaptopril dengan meningkatkan metabolisme (drugs.com)	Moderate	1
5.	Paracetamol dan Fenobarbital	Farmakokinetika : Fenobarbital dapat menurunkan kadar paracetamol dengan meningkatkan metabolisme, sehingga akan meningkatkan metabolit hepatotoksik (Medscape.com)	Moderate	1
6.	Asam Folat dan Fenobarbital	Farmakokinetika : Fenobarbital dapat menurunkan kadar asam folat dengan meningkatkan metabolisme (Medscape.com)	Minor	1

Apabila dua atau lebih obat digunakan secara bersamaan, maka salah satu obat bisa mempengaruhi absorpsi, distribusi, metabolisme atau ekskresi obat lainnya, sehingga kadar plasma obat kedua dapat meningkat atau menurun, hal ini disebut dengan interaksi obat farmakokinetik. Dari hasil penelitian didapatkan frekuensi interaksi farmakokinetik mempengaruhi metabolisme sebanyak 3 kasus dengan persentase 42,9%. Interaksi obat terjadi pada paracetamol dengan fenobarbital yang dapat menyebabkan peningkatan toksisitas dari

paracetamol. Fenobarbital dapat menurunkan kadar paracetamol dengan meningkatkan metabolisme, sehingga akan meningkatkan metabolit hepatotoksik. Interaksi obat farmakokinetika lain yang ditemukan adalah antara kaptopril dan fenobarbital. Fenobarbital dapat menurunkan kadar kaptopril, kombinasi obat ini diterima oleh pasien usia 13 bulan yang didiagnosa bronkopneumonia dengan gagal jantung kongestif, *syndrome down*, serta *syndrome epilepsy*, yang mendapatkan terapi obat meropenem, sefiksime, parasetamol, fenobarbital, furosemid, dan mikonazol, dimana pemberian obat kaptopril dan fenobarbital dalam waktu yang bersamaan.

Berdasarkan interaksi obat farmakodinamik ditemukan 4 kasus dengan persentase (57,1%) (Tabel 3). Salah satu interaksi obat farmakodinamik yang ditemukan dalam penelitian ini adalah kaptopril berinteraksi dengan furosemid. Efek yang ditimbulkan dari kedua kombinasi obat ini yaitu risiko hipotensi. Hal ini terjadi pada pasien dengan didiagnosa bronkopneumonia disertai penyakit jantung bawaan asiantik, *autism spectrum disorder*, hipotiroid kongenital, IgM selektif *deficiency*, infeksi IgG *cytomegalovirus*.

Demikian pula dengan interaksi obat farmakodinamik antara kaptopril, spironolakton dan asetazolamide. Kombinasi obat ini diterima oleh pasien usia empat bulan, dengan diagnosa bronkopneumonia disertai penyakit jantung bawaan asiantik, *autism spectrum disorder*, *hyponatremia*. Penggunaan kaptopril, dan spironolakton dalam waktu bersamaan dapat meningkatkan resiko hipotensi, sedangkan apabila kaptopril digunakan dalam waktu bersamaan dengan spironolakton berpotensi meningkatkan kadar kalium dalam darah (*drugs.com*).



Gambar 1. Diagram angka kejadian interaksi obat berdasarkan tingkat keparahan

Berdasarkan tingkat keparahannya, interaksi obat dapat dibagi menjadi 3, yaitu minor, *moderate* dan major. Interaksi obat yang termasuk ke dalam tingkat keparahan minor, umumnya menimbulkan efek ringan, dan tidak mempengaruhi hasil terapi. Pada penelitian ini terdapat 1 kasus interaksi obat dengan tingkat keparahan minor dengan persentase (14,3%). Obat-obat

yang termasuk dalam kategori ini adalah asam folat dengan fenobarbital. Fenobarbital dapat menurunkan kadar asam folat dengan meningkatkan metabolisme, karena fenobarbital merupakan inducer enzim sehingga dia dapat menurunkan kadar obat lain dengan meningkatkan metabolisme (*Medscape.com*). Interaksi obat dengan tingkat keparahan ringan ini tidak memberikan dampak klinis serius pada pasien, akan tetapi pasien tetap harus dimonitoring.

Interaksi obat dengan tingkat keparahan moderat terjadi bila efek yang ditimbulkan bisa mengakibatkan terjadinya penurunan outcome klinis pasien. Dari hasil yang didapat tingkat keparahan moderate paling banyak terjadi diantara tingkat keparahan lainnya. Pada hasil didapatkan kategori *moderate* adalah sebanyak 5 kasus dengan persentase (71,4%). Obat yang berpotensi mengakibatkan keparahan *moderate* adalah kaptopril dan furosemid. Pemberian obat kombinasi antara kaptopril dan furosemid sering digunakan secara bersamaan, namun efek yang ditimbulkannya dapat menjadi aditif dalam menurunkan tekanan darah sehingga perlu penyesuaian dosis atau tes khusus untuk penggunaan obat tersebut dalam jangka panjang (*Drugs.com*). Penurunan efek *loop diuretic* akan terjadi ketika kaptopril dan furosemid dikombinasikan. Mekanisme tersebut terjadi karena penghambatan angiotensin II dari ACE inhibitor. Monitor status cairan dan berat badan pasien ketika pasien pertama kali diberikan kombinasi kaptopril dan furosemid perlu dilakukan (Tatro, 2009).

Interaksi obat dengan tingkat keparahan moderate lainnya terjadi pada obat parasetamol dengan fenobarbital. Kombinasi obat parasetamol dengan fenobarbital, dapat menurunkan kadar parasetamol dengan meningkatkan proses metabolismenya, sehingga akan meningkatkan metabolit hepatotoksik dan menyebabkan efek samping yang serius yang dapat mempengaruhi hati (*Medscape.com*). Potensial hepatotoksik dari parasetamol dapat meningkat ketika fenobarbital diberikan dalam dosis yang besar, dan efek terapi parasetamol juga berkurang (Astuti, 2017). Tingkat keparahan *moderate* selanjutnya terjadi pada interaksi obat lain dengan obat lain antara kaptopril dan asetazolamid. Pemberian kedua obat secara bersamaan dapat meningkatkan risiko penurunan tekanan darah secara cepat. Dengan demikian perlu dilakukan penyesuaian dosis untuk penggunaan obat tersebut dalam jangka panjang (*Drugs.com*).

Tingkat keparahan major pada interaksi obat dapat berpotensi mengancam jiwa atau dapat menyebabkan kerusakan permanen (Tatro, 2009). Pada tingkat keparahan kategori *major* didapat sebanyak 1 kasus dengan persentase (14,3%). Kejadian interaksi obat dengan tingkat keparahan *major* pada penelitian ini berpotensi terjadi pada interaksi obat antara kaptopril dan spironolakton. Pemberian kaptopril bersamaan dengan spironolakton dapat meningkatkan kadar kalium dalam darah (*hiperkalemia*). Hiperkalemia dapat menyebabkan gejala seperti kelemahan, kebingungan, mati rasa atau kesemutan, dan denyut jantung yang tidak teratur (*Drugs.com*).

4. Kesimpulan

Pada penelitian ini ditemukan bahwa interaksi obat yang sering terjadi pada pasien balita pneumonia rawat inap yang disertai dengan gangguan jantung bawaan di RSUP Dr. Djamil Padang adalah kombinasi kaptopril dengan furosemid.

Daftar Pustaka

- Astiti PMA, Mukaddas A, Safaruddin. 2017. *Identifikasi Drug Related Problems (DRPs) Pada Pasien Pediatri Pneumonia Komunitas Di Instalasi Rawat Inap RSD Madani Provinsi Sulawesi Tengah*. Galenika Journal of Pharmacy; 3(1) : 57-63
- Balakrishnan RK. 2014. *Gambaran pneumonia pada anak di RSUP Haji Adam Malik Medan periode Januari 2011-Desember 2013* [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Baxter K. 2008. *Stockley's Drug Interactions*. RPS Publishing is the publishing organisation of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. London.
- Drugs.com, 2020. *Prescription Drug Information, Interaction & Side Effects*. Tersedia https://www.drugs.com/drug_interactions.html (diakses Agustus 2020)
- Hartati S, Nurhaeni N, Gayatri D. 2012. *Faktor Risiko Terjadinya Pneumonia pada Anak Balita*. Jurnal Keperawatan Indonesia; 15:13-20.
- Herdaningsih S, Ahmad M, Keri L, Nurul A. 2016. *Potensi interaksi obat-obat pada resep polifarmasi: studi retrospektif pada salah satu apotek di kota Bandung*. Jurnal Farmasi Klinik Indonesia; 5(4):288-292.
- Kemntrian Kesehatan Indonesia RI. 2018. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Balitbang kemenkes RI
- Medscape, 2020, *Drug Interaction Checker*, (Online), (<http://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>).
- Pediatric Formulary Committee. 2011. *BNF for Children 2011-2012 (British National Formulary for Children)*. London: British National Formulary Publications
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. 1994. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit, Edisi IV*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Saula Ls, dan Indah LH. 2019. *Potensi Interaksi Obat pada Resep Pasien Rawat Inap Pediatrik: Studi Retrospektif di Rumah Sakit Ibu dan Anak*. Universitas Singaperbangsa Karawang
- Soewignjo S, Gessner BD, Sutanto A, Steinhoff M, Prijanto M, Nelson C, et al. 2001. *Streptococcus pneumonia Nasopharyngeal Carriage Prevalence, Serotype Distribution, and Resistance Patterns among Children on Lombok Island, Indonesia*. Clinical Infection Disease.; 32:1039-43.
- Tatro D.S. 2009. *Drug Interaction Fact The Authority Drug Interactions, Fact And Comparison*. Wolter Kluwers, St Louis.
- World Health Organization (WHO). 2013. *Hospital care for children Second edition*. USA: WHO.
- World Health Organization. 2013. *Pocket book of Hospital Care for Children: Guidelines for Management Common Childhood Illness*. 2nd ed. Geneva.
- Suharjono, Yuniati, T., & Semedi, S. (2009). Studi Penggunaan Antibiotika pada Penderita Rawat Inap Pnemonia. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 6(3), 142-155.

The pattern of vancomycin, gentamycin, and meropenem prescriptions for the inpatients of a regional public hospital in Yogyakarta, Indonesia

Mutiara Herawati¹, Mir-a Kemila², Putri Anggriani¹, Nur Mardhiyah¹, Siti Maulida¹

¹Department of Pharmacy, Faculty of Science and Mathematics, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

²Pharmacy Department, JIH Hospital, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: mutiara.herawati@uui.ac.id

Abstract

Background: The mechanism of action of gentamycin is inhibiting protein synthesis inside bacteria. Meropenem and vancomycin have the same mode of action that inhibit bacterial cell wall activity. Antibiotic resistance occurs when antibiotic use does not follow the guidelines. Therefore, this study aims to determine how vancomycin, gentamycin, and meropenem are prescribed in a regional public hospital.

Objective: This study aimed to evaluate the prescription of vancomycin, gentamycin, and meropenem in Yogyakarta Regional Public Hospital in 2017.

Methods: This research employed a descriptive analysis with a cross-sectional design. The study was conducted to describe the profiles of vancomycin, gentamycin, and meropenem utilization. Data collection was performed retrospectively using patients' medical record data including the diagnosis, dosage, and duration of administration.

Results: The study showed that the total number of patients who received aminoglycoside: meropenem: vancomycin antibiotics in 2017 and met the research criteria was 6:8:24. According to the diagnosis, gentamycin was used for post-operation (75%), then sepsis and encephalitis. Meropenem was used for sepsis with a percentage of 67% while vancomycin was for endocarditis, intraabdominal, MRSA, cellulitis, pneumonia, and sepsis. Based on the appropriate dosage in the guidelines, the prescribing of gentamycin and meropenem resulted in 100% properness and 69.23% for vancomycin. For the duration of appropriate utilization, it was found that the most prolonged use was in patients given meropenem for 29 days, and the fastest use was a day for patients using vancomycin.

Conclusion: Vancomycin, gentamycin, and meropenem had the appropriate dosage. However, discrepancies were still found in the indication and duration of the treatment using these antibiotics.

Keywords: Vancomycin, gentamycin, meropenem, antibiotics

1. Introduction

Infectious diseases are among the leading causes of death in developing countries. One of the developing countries is Indonesia (WHO, 2015a). Antibiotics to treat and prevent infectious diseases caused by bacteria are widely used globally, and 65% of the patients in 12 countries used antibiotics for six months. As many as 81% said they were prescribed or given antibiotics by doctors or nurses (average between countries: 56% - 93%). As many as 93% said they received antibiotics from pharmacies or drugstores (average between countries: 83% - 97 %) (WHO, 2015b).

Inappropriate prescribing of antibiotics leads to resistance. In addition, the length of administration and excessive use elevate the risk of such resistance (Bisht, *et al.*, 2009). Antibiotic resistance has an impact on the increasing medical costs and mortality (WHO, 2017).

Vancomycin, gentamicin, and meropenem are antibiotics that doctors prescribe to treat severe infections. The use of these antibiotics must be monitored to minimize antibiotic resistance.

Vancomycin is of the glycopeptide class that works by inhibiting bacterial cell wall synthesis. Vancomycin is used to treat serious infections caused by gram-positive bacteria, such as *S. aureus* and *S. epidermidis* that are resistant to methicillin or Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA), *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, and Viridans Streptococci (Brunton *et al.*, 2008). In addition, vancomycin can also be used for colitis, enterocolitis, endophthalmitis, hospital-acquired pneumonia, meningitis, and prophylaxis in surgical procedures (Aberg *et al.*, 2009).

Vancomycin is an antibiotic of which the use must be restricted. Its use is based on the guidelines or approval from the Antibiotic Resistance Control Committee (PPRA) in hospitals (Fauzia, 2015). In 2010, Vancomycin-Resistant Staphylococcus Aureus (VRSA) was found in 10 of 64 isolates (15.6%) of the stethoscope membrane in a study of the resistance of Staphylococcus aureus to vancomycin antibiotics at Margono Soekarjo Hospital in Purwokerto (Anjarwati, 2010).

Gentamicin is a group of aminoglycosides. It has a mechanism of action by inhibiting protein synthesis in bacterial cells. The aminoglycoside group interferes with protein synthesis by binding to the 30S ribosomal subunit, thus inhibiting bacterial cell protein formation. Because of the narrow therapeutic range, aminoglycosides exert a bactericidal effect at high serum concentrations. These antibiotics also show a post-antibiotic impact, which means that the bactericidal effect continues even after serum levels drop below the level considered to be therapeutic (Bruce & Hicks, 2011). Meanwhile, the antibiotic resistance data show a 70% gentamicin resistance pattern (Nurmala *et al.*, 2015).

Meropenem is an antibiotic from the carbapenem group included in the list of antibiotics the use of which must be limited. Meropenem antibiotics have a broad-spectrum activity, so they are frequently used to treat serious infections caused by bacteria that are resistant to previous antibiotics. Sometimes this antibiotic becomes the last choice for several infections (Halim *et al.*, 2017). However, some specific criteria limit the use of meropenem in patients. It can only be given to patients infected with ESBL bacteria and to those with prophylactic surgery for the heart (KeMenKes RI, 2017). At Dr. Cipto Mangunkusumo Hospital, it was known that 50.5% of *Acinetobacter baumannii* bacteria isolated from ICU patients were resistant to carbapenem, and from 24 isolates of *A. baumannii* bacteria isolated from neonates in NICU, 82% of the bacteria were found to be resistant to Carbapenem (Karuniawati, 2013; Tjoa, 2013).

This research was conducted in one of the regional general hospitals in Yogyakarta at the final level of health insurance facility in Indonesia (BPJS) to examine the use of Vancomycin, Gentamicin, and Meropenem antibiotics. The use of these antibiotics were observed based on the diagnosis, dosage, and duration.

2. Method

2.1. Research subjects

This study was a descriptive observational study with a cross-sectional study design in one of the public hospitals in Yogyakarta. Patients were eligible to participate in this study if they were prescribed vancomycin, gentamicin, or meropenem. Data was collected from the patient's medical records in 2017.

2.2. Data collection

The data collected consisted of the patient's name, gender, age, diagnosis, dosage, duration of use, and patient's laboratory data. Meanwhile, the data source used was the patient's medical record during 2014-2017. All data was collected using a data collection sheet. This data sheet was proceeded with a research form or research tool. The duration of information was stored by following the length of data storage at the hospital where the study was conducted.

2.3. Statistical analysis

The data obtained were then presented in the form of reports and tables to identify the patterns of use of vancomycin, gentamicin, and meropenem antibiotics at the hospital.

3. Results and discussion

Thirty-eight patients received vancomycin or gentamicin, or meropenem prescribing. Of these patients, six received vancomycin, eight took gentamicin, and 24 were given meropenem. Vancomycin and meropenem were administered BID or in three divided doses, and gentamicin was administered once daily, BID, or in three divided doses. The mean (range) duration of treatment was 6.8 days (1 to 12 days) in the vancomycin group, six days (4-10 days) in the gentamicin group, and nine days (2 to 29 days) in the meropenem group (Table 1).

Table 1. Demographic characteristics of the evaluated patients

Characteristic	Vancomycin	Gentamicin	Meropenem
	patient (n)		
No. of patients	6	8	24
Sex (No. of males/No. of females)	4/2	4/4	14/10
Mean age, years (range)	59 (21-60)	41 (23-69)	52 (21-77)
Mean treatment duration, days (range)	6.8 (1-12)	6 (4-10)	9 (2-29)
No. of patients with an infectious disease			
Endocarditis infection	1		
Intraabdominal sepsis	1		
MRSA	1		
Cellulitis	1		
Pneumonia	1		4
Sepsis	1	1	16
Post Operation		6	

Characteristic	Vancomycin	Gentamicin	Meropenem
	patient (n)		
Encephalitis		1	
Urinary Tract Infection			4

Table 1 shows that male patients are more likely to be patients receiving antibiotic regimens. For example, in Balasubramanian’s study, 2011, the prescribing pattern of antimicrobials in a tertiary care hospital was obtained from 16,121 prescriptions containing antibiotics, indicating that some antibiotics were more widely used among male patients (Balasubramanian *et al.*, 2011).

The response of disease between men and women can be very different. Some factors can cause the risk of having an infection. One crucial factor is differences in lifestyle and the different levels of immunity to disease between men and women. The exemption is influenced by sex hormones and the presence of other expressions of the X-chromosome gene encoded in the immune response to pathogens, as in autoimmunity, including multiple autoimmune diseases, with women having a percentage of 80%. However, another study that reviews sex differences in parasitic infections shows that men are more often affected by several parasites, including amoebic liver abscesses that occur to more than 80% of them. Therefore, the magnitude of the risk of infection between men and women can differ depending on the type of pathogen that attacks the patient (Van Lunzen & Altfeld, 2014).

Table 1 shows the mean age of ≥ 40 years. Productive age into geriatrics is the age group that receives the most antibiotics due to decreased functions of the organs and immune system. Therefore, this group is more at risk and vulnerable to bacteria that cause infections. Vancomycin is thus minimally administered because caution is needed in prescribing it. Table 1 shows the condition of a severe disease given vancomycin. In the Gentamicin group, it was seen that the most use was found in the patient's condition after undergoing surgery. In contrast, the use of meropenem was mostly in the situation of sepsis.

Vancomycin can be given to patients with a diagnosis of infective endocarditis if they are unable to tolerate penicillin or ceftriaxone administration. Vancomycin can also be given to patients diagnosed with infective endocarditis as empirical therapy until the microbiological culture tests are obtained (Baddour *et al.*, 2015). Vancomycin can be used alone for infective endocarditis or, if needed, can be given in combination with the aminoglycoside class (Baddour *et al.*, 2015; Dipiro *et al.*, 2008).

Vancomycin can be administered for intraabdominal sepsis caused by *Enterococcus faecalis* bacteria, ampicillin-resistant enterococci, and MRSA. Vancomycin can also be given as

empirical therapy for intraabdominal sepsis and can be combined with cefepime, ciprofloxacin, doripenem, imipenem/cilastatin, levofloxacin, meropenem, or piperacillin/tazobactam (Solomkin *et al.*, 2009).

The guidelines from the American Thoracic Society and Infectious Society Disease of America recommend that empirical therapy for Hospital Acquired Pneumonia (HAP) in patients at risk of multidrug-resistance should include treatment for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), namely vancomycin. Hospital-Acquired Pneumonia (HAP) or nosocomial pneumonia occurs after a patient is hospitalized for 48 hours (ATS Board, 2005; Patanwala *et al.*, 2009).

Gentamycin antibiotics are effective against gram-negative bacteria which also often produce septic shock compared to gram-positive organisms. Gram-negative sepsis also results in a higher mortality rate compared to sepsis from other groups of organisms (Dipiro *et al.*, 2008).

Based on the literature on the management of aminoglycosides in the intensive care unit, gentamycin distribution to the lung tissue is not optimal. Infected airways, especially alveoli, multiply and cause pneumonia (Radigan *et al.*, 2010). As a result, gentamycin does not help treat pneumonia due to anaerobic bacteria or *S. pneumonia*, which is a cause of pneumonia obtained in public (CAP). Meanwhile, in hospital-acquired pneumonia (HAP), where gram-negative aerobic organisms are the most common cause, gentamycin is recommended with β -lactam antibiotics as standard therapy (Brunton *et al.*, 2011).

The use of gentamycin as surgical prophylaxis is not the primary recommendation. In the antibiotic selection guide from IDSA 2013, it is mentioned that the recommended antibiotic is cefazolin, with the most level of evidence A and B in most surgical procedures. In some cases, ampicillin-sulbactam, ceftriaxone, or a combination with metronidazole can be used (CDK, 2014). Antibiotics in the Gentamycin group, according to the clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery, can also be given in several surgical procedures, especially as an alternative for patients who are allergic to antibiotics but in use with other antibiotics such as clindamycin or vancomycin. In patients undergoing antibiotic surgical procedures, gentamycin used as prophylaxis is generally administered with a recommended dose of 5 mg/kg in adult patients and 2.5 mg/kg in pediatric patients (Bratzler *et al.*, 2013).

Meropenem is an antibiotic often prescribed to patients with sepsis because sepsis is a disease with a high risk of complications and death. Therefore, the selection of antibiotics with a broad antibacterial activity such as meropenem is appropriate for treating severe infections in critically ill patients. In a previous study, Carbapenem becomes the second class of antibiotics most widely used to treat sepsis (Díaz-Martín *et al.*, 2012).

Meropenem is a broad-spectrum antibiotic that is very potent against Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp, Acinetobacter spp, H. influenza, and anaerobic bacteria and can fight resistant organisms that cause severe nosocomial infections. A previous study has reported that meropenem has demonstrated its efficacy as the first-line treatment for respiratory infections and nosocomial pneumonia in ICUs with low mortality (Santos *et al.*, 2001). According to the Handbook of Pharmacotherapy, patients diagnosed with bronchitis can be given Carbapenem class if the disease has reached stage 4 (Dipiro *et al.*, 2009).

The Journal of Infectious Disease Society of America (IDSA) stated that meropenem is one of the beta-lactam antibiotics used as empirical therapy to treat CAP caused by gram-negative bacilli such as P. aeruginosa and Enterobacteriaceae, combined with ciprofloxacin or levofloxacin (Mandell *et al.*, 2007; Gupta *et al.*, 2012). The recommended dosage of meropenem given to CAP patients is 1 gram every 8 hours with infusion for 3 hours (Gupta *et al.*, 2012). In patients diagnosed with Hospital-Acquired Pneumonia (HAP), the bacteria that infect patients are unknown because there is no examination of bacterial culture. According to the IDSA guidelines: Management of Adults with HAP/CAP, patients diagnosed with HAP that are not at risk indicated by MRSA bacteria and not at high risk of death can be given meropenem empirically at a dose of 1 gram every 8 hours IV (Kalil *et al.*, 2016).

Meropenem antibiotics can be given to patients with urinary tract infections if the patients have a severe infection and are susceptible to bacterial infection with Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL), to patients with Pseudomonas or multi-drug resistance risk factors, or to patients with severe infections due to unknown pathogens (Anonymous, 2015; Gupta, 2017).

Table 2. Drug profile in patients receiving vancomycin or gentamicin or meropenem

Drug Profile	Vancomycin	Gentamicin patient (n)	Meropenem
Number of patients	6	8	24
Drug Dosage			
500 mg/8 hours	1		
500 mg/12 hours	1		
1 gram/12 hours	4		
80 mg/8 hours		1	
80 mg/12 hours		6	
80 mg/24 hours		1	
1 gram/8 hours			19
1 gram/12 hours			5
Duration			
≤ 7 days	3	6	11
> 7 days	3	2	12

An appropriate dosage is given based on the literature or existing guidelines, namely from the drug information handbook—100% dosage compliance. The dosage given can depend on the patient's conditions, such as age, weight, dosage calculation, and other accompanying conditions.

The dosage of vancomycin for diagnosed infective endocarditis in patients was 500 mg every 8 hours given intravenously. Based on the literature, the vancomycin dosage for infective endocarditis is 1000 mg every 12 hours for patients with normal kidney conditions, whereas for patients with complications of kidney failure, the dosage should be adjusted to the patient's kidney function by calculating the creatinine clearance. Therefore, based on the literature on vancomycin use in patients with infective endocarditis, the dosage given was below the dosage listed in the literature or not following the literature (Vandecasteele & De Vriese, 2010).

The vancomycin dosage received by patients diagnosed with intraabdominal sepsis was 1 g every 12 hours in a drip of 100 cc NaCl, which was used up in 1 hour. Based on the literature, the vancomycin dose for patients diagnosed with intraabdominal sepsis is 1000 mg. The administration of vancomycin by intravenous infusion at a quantity of 1 g should be given with a duration of administration that runs out within >60 minutes (1 hour) to prevent the side effects of rapid infusion or red-man syndrome. The administration of vancomycin to patients with intraabdominal sepsis has therefore followed the literature (Dipiro *et al.*, 2008).

According to the study results, patients with a diagnosis of cellulitis received a dose of 1 g every 12 hours with a duration of administration of five days given intravenously. Based on the Diagnosis and Treatment of Cellulitis, vancomycin dosage for cellulitis is 15 mg/kg every 12 hours, so a patient weighing 82 kg with cellulitis should receive approximately 1230 mg. The vancomycin dose received by the patients with cellulitis in this study was below the dose set by the literature or not according to the literature.

From the study results, the patients received vancomycin at a dose of 1 g every 12 hours in 0.9% NaCl of 100 cc, which was discharged within 1 hour given through intravenous infusion. Based on the literature, the vancomycin dosage is 1 gram every 12 hours for the diagnosis of pneumonia (Patanwala *et al.*, 2009). Therefore, the dosage received by these patients was as per literature.

Based on the study results, the patients diagnosed with sepsis were given vancomycin at a dose of 1 g every 12 hours intravenously. According to the literature, the treatment using vancomycin for patients diagnosed with sepsis by MRSA culture test includes a dose of 1 g every 12 hours (Nguyen *et al.*, 2006). Therefore, the dosage of vancomycin received by the patients for their sepsis has followed the literature.

From the study results, patients who received vancomycin therapy at a dose of 1 g every 12 hours in NaCl 0.9% 100 cc by intravenous infusion were given vancomycin singly. Based on the literature, the vancomycin dosage for HAP is 1 gram every 12 hours (Patanwala *et al.*, 2009). This indicates that the amount of vancomycin administered to the patients for their pneumonia has been in accordance with the literature.

Aminoglycoside class of antibiotics is an antibiotic that is concentration-dependent killing, and the post-antibiotic effect means the bactericidal effect of aminoglycosides is determined by the ratio between drug concentrations in plasma and MIC. The effect of bacterial killing will be optimal if the peak plasma concentration (C_{max}) is > 10 times MIC of bacteria. Consequently, administration by means of the Extended Interval Aminoglycoside Dosing (EIAD) or once-daily dosing is considered more effective. Gentamicin dosage is adjusted according to the patient's kidney condition. For normal kidney function (creatinine clearance > 90 ml/min), the empirical dosage of gentamicin should be between 1.2-2 mg/kg every 8 hours (Pangalila, 2012).

Meropenem is generally given to patients at a dose of 500 mg - 1 gram every 8 hours. In meningitis, meropenem is provided at a dose of 2 grams every 8 hours. Adjustment of the dosage in the administration of meropenem needs to be done when the antibiotic is given to patients, infants, children, and the elderly (Lacy *et al.*, 2009).

A large number of doses of meropenem is given to patients at 12-hour and 8-hour intervals. Patients who receive meropenem at 12-hour intervals are the elderly and patients with impaired kidney function. Meropenem requires dose adjustment in patients having a poor renal function with Clcr of less than 50 mL/min, dialysis patients, and patients taking continuous renal replacement therapy (CRRT) through an increase in the dosage interval to every 12 hours or 24 hours (Lacy *et al.*, 2009).

Related to the duration, duration of vancomycin use in the patients was eight days, while based on the literature, vancomycin should be given to infective endocarditis for four weeks (Vandecasteele, & De Vriese, 2010). Meanwhile, the duration of vancomycin use in the patients was seven days, and based on the literature for the benefit of vancomycin for infections caused by MRSA, it is recommended to be given for 7-14 days (Lambert, 2011); therefore, the duration of use for the patients has been appropriate. Meanwhile, based on the culture test of SWD patients given vancomycin for infections caused by MRSA bacteria, it has already been reasonable.

The duration of vancomycin use in the patients was five days, whereas based on the literature, the period of vancomycin use for patients with skin or soft tissue infections caused by MRSA bacteria is approximately 5-10 days (Raff & Kroshinsky, 2016). The duration of vancomycin

use in S patients was therefore appropriate. The use of vancomycin in these S patients is empirical. Based on the literature, vancomycin antibiotics can be given to patients' syringes without culture testing.

The duration of use of vancomycin was eight days. Based on the literature, the service period for pneumonia caused by MRSA bacteria is 7-21 days (Lambert, 2011). Therefore, the duration of use for the patients has been in accordance with the literature. Meanwhile, patients who received vancomycin antibiotics for MRSA bacteria were appropriate for culture testing.

The duration of use for patients who received vancomycin was one day because during the first use these patients already had allergies. Based on the literature, the time of use for patients diagnosed with an infection caused by MRSA bacteria given vancomycin is for 7-14 days (Lambert, 2011).

The duration of vancomycin use in these patients was six days. Based on the literature, the duration of vancomycin use for the diagnosis of pneumonia is 7 to 21 days (Lambert, 2011). Based on the literature, the use of vancomycin antibiotics should be based on culture and sensitivity testing (Aberg *et al.*, 2009).

Duration of administration is one of the factors that can be used to measure the effectiveness of drug use and to identify the average time of patient therapy. In table 2, it can be seen that the duration of administration of gentamicin is seven days at most. The period of antibiotic use also shows different results depending on the infection suffered by the patient. According to the Indonesian Ministry of Health (2009), antibiotics are generally effectively used for therapy for less than ten days. Most patients are allowed to go home after receiving treatment in the hospital for less than ten days. Another study also mentions that the effective duration of antibiotic therapy is 10-14 days (Farida *et al.*, 2017).

This study showed that patients who received the most extended antibiotic therapy for ten days were diagnosed with sepsis. In terms of indications, the use of antibiotics is appropriate. Based on the literature on patients with sepsis, 10-14 days of treatment with antibiotics is recommended (Sivanandan *et al.*, 2011).

The shortest duration of the administration of meropenem was one day. Before being given meropenem antibiotics, these patients used ceftriaxone as their first therapy. As a result, these patients had a diagnose unrelated to infectious diseases such as pulmonary edema and after cesarean section. However, the patients' laboratory data showed an increase in the neutrophil levels to above the average of 82%, while the lymphocyte levels were below the standard threshold of 10%. These parameters indicated that the patients had an infection with high severity. However, the

administration of meropenem antibiotics with a short duration of concern could result in antibiotic-resistant bacteria.

The most extended duration of administration of meropenem was 29 days. Patients who received meropenem antibiotic therapy suffered from complications due to bronchopneumonia infection and sepsis, and these patients were diagnosed with stage IV B20 disease. Patients diagnosed with B20 are susceptible to nosocomial conditions because the disease attacks the patient's defense system. Therefore, it is necessary to administer broad-spectrum antibiotics such as meropenem. However, long-term administration of meropenem is not recommended because it can lead to fungal and bacterial superinfection, including *C. difficile*-associated diarrhea (CDAD) and pseudomembranous colitis (Lacy *et al.*, 2009). In addition, the administration of antibiotics with a long duration is not recommended considering the effectiveness of therapy and the increase in the likelihood of antibiotic-resistant bacteria.

4. Conclusion

Vancomycin and meropenem are included in the category of retention drugs (restricted use) because these antibiotics have a high frequency of resistance. However, the use of gentamicin must also be given special attention because if there is an error in giving either an indication, dosage, or duration, it can cause a decrease in the kidney function of the patient. The results of this study indicated that the conditions were still found to be inconsistent with the indication, dosage, and duration. As with vancomycin, the use had to be based on bacterial culture data. However, none of the patients had bacterial culture data. One patient was identified as having an allergic response to vancomycin, which could worsen the patient's condition. In terms of the use of drugs or the duration, there were still some that did not comply with the antibiotic use guidelines. This would be hazardous for patients and could develop into antibiotic resistance. The dosage given to patients who received either vancomycin or gentamicin or meropenem therapy was all stated according to the dosage in the guidelines. Vancomycin, Gentamycin, and Meropenem were appropriate to the dosage, but discrepancies were still found in the indication and duration of the treatment using antibiotics.

References

- Aberg, J.A., et al, 2009. *Drug Information Handbook*. Lexi-Comp for the American Pharmacists Association.
- Ames, Iwoa, 2016. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *The Center for Food Security & Public Health* 1-3.

- Baddour et al, 2015. Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications. *AHA Scientific Statement* 132, 1435–1486. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000296>
- Balahura, C., et al, 2015. Update In Antibiotic Therapy Of Biliary Tract Infections. *Revista Romana De B Oli Infectioase* 13, 38.
- Brunton L., Keith Parker, Donald Blumenthal, Iain Buxton, 2008. *Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. Mc Graw Hill Medical, New York.
- Diener MK., et al, 2005. A case of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection following bile duct stenting. *World J Gastroenterol* 11, 1397.
- Dipiro J.T., R. L.Talbert, G. C.Yee, G. R.Matzke, B. G. Wells, L. M. Posey, 2008. *Pharmachotherapy A Pathophysiologic Approach, Seventh edition*. ed. Mc Graw Hill Medical, New York.
- Kemenkes RI, 2015. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 8 tahun 2015 tentang Program Pengendalian Resistensi Antimikroba di Rumah Sakit*. Direktorat Bina Pelayanan Kefarmasian.
- Kemenkes RI, 2011a. *Pedoman Pelayanan Kefarmasian Untuk Terapi Antibiotik*. Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Jakarta.
- Lambert, M, 2011. IDSA Guidelines on the Treatment of MRSA Infections in Adults and Children. *American Family Physician* 84, 456–461.
- Patanwala et al., 2009. Vancomycin Dosing for Pneumonia in Critically Ill Trauma Patients. *The Journal of TRAUMA® Injury, Infection, and Critical Care* 67, 802–804.
- Radhika, et al, 2014. Pharmacokinetics of intravitreal antibiotics in endophthalmitis. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection* 4, 2.
- Raff AB., Daniela Kroshinsky, 2016. *Cellulitis* 316, 325–337. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.8825>
- Rizzo, JL., et al, 2012. Exogenous endophthalmitis: Post-operative versus post-intravitreal injection. *Vis. Pan-America* 11 (2), 42.
- Shim, R., Connie H. Y. Wong, 2016. Ischemia, Immunosuppression and Infection-Tackling the Predicaments of Post-Stroke Complications. *International Journal of Molecular Sciences* 17. <https://doi.org/0.3390/ijms17010064>
- Solomkin, J.S. et al., 2009. Diagnosis and Management of Complicated Intra-abdominal Infection in Adults and Children: Guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *IDSA Guidline* 50, 139.
- Van Lunzen and Altfeld, 2014, Sex Differences in Infectious Diseases-Common but Neglected, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 209, Issue suppl_3, pS79-S80. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu159>
- WHO, 2015a, *WHO multi-country survey reveals widespread public misunderstanding about antibiotic resistance*, <available at: <https://www.who.int/news/item/16-11-2015-who-multi-country-survey-reveals-widespread-public-misunderstanding-about-antibiotic-resistance>>
- WHO, 2015, *Global action plan on antimicrobial resistance*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. WHO document production services. Geneva. Switzerland.
- WHO, 2017, *Global action plan on antimicrobial resistance*, World Health Organization, pp. 1–28.

The profile of anxiety, stress, and depression among pharmacy students in Universitas Islam Indonesia

Gambaran kecemasan, stress, dan depresi mahasiswa di Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia

Mutiara Herawati^{1*}, Aldia Karinaningrum², Yosi Febrianti¹

¹Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

²Magister Framasi Klinik, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Corresponding author: mutiara.herawati@uui.ac.id

Abstract

Background: Implementation of the new curriculum is tiresome for both lecturers and students. Students who are passive and have limited cognitive abilities will feel depressed. This condition can cause anxiety leading to stress and ultimately depression. The enhancement of graduation standard for apothecary students rises the depression risk factors, especially for retaker students (students who do not pass the Indonesian Pharmacist Competency Exam).

Objective: This study aimed to identify the level of anxiety, stress, and depression among undergraduate pharmacy and pharmacist profession students.

Method: This study was a cross-sectional design that employed the students of undergraduate and apothecary program. Respondents involved in this study were undergraduate students in 2nd, 3rd, and 4th year (n=451) and professional students from batches 35, 36, and 37 (n=271). The DASS 42 questionnaire (Depression Anxiety Stress Scale) was used to identify depression. The data was analyzed descriptively.

Result: The number of respondents who met the inclusion criteria was 668. Most undergraduate students had moderate levels of anxiety, normal stress, and normal depression, while apothecary students had normal profiles for all parameters.

Conclusion: The various activities and pressure during learning process triggered psychological disorder for only 5% of respondent.

Keywords: Anxiety, stress, depression, DASS-42

Intisari

Latar belakang: Implementasi kurikulum baru sangat menguras pikiran dan tenaga, baik dosen maupun mahasiswa. Bagi mahasiswa yang pasif dan memiliki kemampuan kognitif terbatas akan merasakan kondisi tertekan. Kondisi tersebut dapat menyebabkan kecemasan yang meningkat menjadi stress dan pada akhirnya depresi. Peningkatan standar kelulusan mahasiswa apoteker berpotensi meningkatkan faktor risiko kejadian depresi, terutama bagi mahasiswa retaker (mahasiswa yang tidak lulus Ujian Kompetensi Apoteker Indonesia).

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi tingkat kecemasan, stress, dan depresi mahasiswa S1 farmasi dan profesi apoteker.

Metode: Penelitian menggunakan rancangan *cross-sectional* kepada mahasiswa program studi farmasi dan profesi apoteker. Responden yang terlibat dalam penelitian ini adalah mahasiswa strata pertama pada tahun ke-2,3, dan 4 (n=451) serta mahasiswa profesi angkatan 35, 36, dan 37 (n=271). Alat yang digunakan untuk mengidentifikasi depresi adalah kuesioner DASS 42 (*Depression Anxiety Stress Scale*). Data yang diolah secara deskriptif.

Hasil: Jumlah responden yang sesuai dengan kriteria inklusi sebanyak 668. Mayoritas mahasiswa S1 memiliki profil tingkat kecemasan sedang, stress normal, dan depresi normal, sedangkan pada mahasiswa profesi apoteker memiliki profil tingkat kecemasan, stress, dan depresi normal. increase

Kesimpulan: Dengan berbagai aktivitas dan tekanan selama proses pembelajaran, mayoritas mahasiswa tidak mengalami gangguan psikis, meskipun 5% diantaranya menyatakan mengalami gangguan.

Kata kunci : Kecemasan, stress, depresi, DASS-42

1. Pendahuluan

Perubahan kurikulum dalam program studi ini berdampak pada proses pembelajaran mahasiswa. Selain adanya perubahan kurikulum, penerapan penilaian berbasis capaian pembelajaran mata kuliah (CPMK) menuntut mahasiswa untuk lebih aktif dan giat dalam proses belajar. Disamping itu, hasil penelitian dengan judul *Anxiety and depression among medical students: A cross-sectional study* menunjukkan bahwa mahasiswa kesehatan salah satunya kedokteran, merupakan kelompok rentan yang memiliki prevalensi tinggi morbiditas psikiatri yang terdiri dari kecemasan dan depresi (Jadoon NA, Yaqoob R, Raza A, Shehzad MA, Zeshan SC, 2010).

Implementasi kurikulum baru maupun penilaian berbasis CPMK tentunya sangat menguras pikiran dan tenaga. Dari hasil observasi, mahasiswa seringkali mengeluhkan padatnya materi dan tugas kuliah. Hal ini dapat menurunkan produktivitas mahasiswa dalam mengembangkan *soft skill* nya. Pada kenyataannya, mahasiswa tidak hanya dituntut untuk mengembangkan *hard skill* melainkan juga *soft skill*, seperti pengembangan diri dalam berbagai aspek organisasi. Tanggung jawab dan tuntutan kehidupan akademik pada mahasiswa dapat menjadi bagian stress bahkan dapat berkembang menjadi depresi dan gangguan kecemasan yang dialami oleh mahasiswa. Stress merupakan salah satu reaksi atau respon psikologis manusia saat dihadapkan pada hal-hal yang dirasa telah melampaui batas atau dianggap sulit untuk dihadapi. Menurut Jogaratnam & Buchanan (2004) stress akademik merupakan tekanan mental dan emosional, atau tension, yang terjadi akibat tuntutan kehidupan kampus, sedangkan depresi dan kecemasan merupakan gangguan mental yang ditandai dengan adanya perasaan tertekan, kelelahan dan mengalami demotivasi. Adapun sumber stress akademik meliputi: situasi yang monoton, tugas yang terlalu banyak, kebisingan, tuntutan yang saling bertentangan, tidak dihargai, diacuhkan, kehilangan kesempatan dan *deadline* berbagai tugas kuliah.

Survei awal yang dilakukan di prodi farmasi menunjukkan mahasiswa mengeluhkan rasa bosan dengan pertemuan dan tugas kuliah yang sangat padat, sering merasa sakit kepala, perih lambung, sulit tidur, merasa cemas, dan mudah tersinggung. Kondisi di atas menunjukkan adanya gejala stress, depresi maupun kecemasan pada mahasiswa. Pada tingkat stress yang sedang sampai dengan berat dapat menghambat pembelajaran. Peningkatan jumlah stress akademik akan menurunkan kemampuan akademik yang berpengaruh terhadap indeks prestasi mahasiswa Potter & Perry (2005). Berdasarkan gambaran di atas, evaluasi penerapan kurikulum baru di Jurusan

Farmasi penting untuk dilakukan salah satunya dengan melakukan pengukuran tingkat stress, depresi dan gangguan kecemasan mahasiswa serta analisis tingkat signifikansi gangguan tersebut terhadap indeks prestasi mahasiswa.

2. Metode

2.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan rancangan *cross-sectional*. Pengumpulan data dilakukan secara prospektif menggunakan data primer dari seluruh mahasiswa di Jurusan Farmasi. Instrumen penelitian berupa kuesioner yang berisi identitas responden, pertanyaan mengenai penilaian stress, depresi dan kecemasan yang mengacu pada penelitian sebelumnya (Ashari dan Hartati, 2017).

2.2 Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia (UII).

2.3 Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa prodi farmasi UII, angkatan 2020 (semester I), 2019 (semester II), 2018 (semester IV), dan 2017 (semester VI) yang berjumlah 451 mahasiswa serta mahasiswa PSPA angkatan 35, 36, dan 37 yang berjumlah 217 mahasiswa.

2.4 Pengumpulan data dan analisis data

Instrumen pengumpulan data pada penelitian ini menggunakan kuesioner *Depression, Anxiety, Stress, Scales* (DASS). Kuesioner terdiri dari 3 domain, yaitu domain depresi, kecemasan dan stress masing- masing mengandung 14 pertanyaan (Lovibond, 1995). Data yang telah diperoleh dianalisis secara deskriptif dalam bentuk jumlah responden.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Demografi responden

Populasi dalam penelitian ini adalah mahasiswa prodi farmasi UII, angkatan 2020 (semester I), 2019 (semester II), 2018 (semester IV), dan 2017 (semester VI) yang berjumlah 451 mahasiswa dan mahasiswa profesi apoteker angkatan 35, 36, dan 37 yang berjumlah 217 mahasiswa.

Pada Tabel 1 diketahui bahwa dari mahasiswa semester I, II, IV, dan VI sebagian besar mahasiswa berjenis kelamin perempuan dan IPK > 3 terutama pada semester II sebesar 63,33% (95 responden). Hanya sebagian kecil mahasiswa yang berasal dari SMF dengan jumlah 15 reseponden pada semester I dan semester IV sebanyak 24 responden. Di antara seluruh mahasiswa yang telah

masuk program studi farmasi, terdapat mahasiswa yang menjadikan farmasi sebagai pilihan kedua ataupun ketiga. Meskipun demikian, mayoritas masih menjadikan farmasi sebagai pilihan pertama saat pendaftaran calon mahasiswa.

Tabel 1. Demografi responden mahasiswa S1 Farmasi

Jumlah Responden	Semester I n=128	Semester II n=150	Semester IV n=109	Semester VI n=64
IPK				
< 2	-	3	1	0
2-3	-	52	50	26
> 3	-	95	58	38
Jenis Kelamin				
Laki-Laki	21	24	23	6
Perempuan	107	126	86	58
Asal Jurusan				
SMA IPA	113	126	85	46
SMF	15	24	24	18
Pilihan Jurusan Farmasi				
ke-1	101	73	65	30
ke-2	22	49	37	26
ke-3	5	28	7	8
Alasan Memilih Farmasi				
Diri Sendiri	88	70	66	30
Tertolak	13	28	17	16
Jurusan Lain				
Orang Lain	27	52	26	18
Jalur Masuk Farmasi				
PSB	33	56	55	25
PBT	4	18	14	4
CBT UII	13	50	23	20
CBT Non-UII	78	26	17	15
Aktivitas Selain Kuliah				
Tidak Ada	97	80	45	40
Organisasi	26	68	64	24
Kerja	5	2	0	0
Sumber Biaya				
Orang Tua	123	145	107	63
Beasiswa	4	4	1	1
Lain-Lain	1	1	1	0
Tempat Tinggal				
Rumah	109	16	17	4
Kos	18	127	91	59
Asrama	1	7	1	1

Keterangan:

IPK = Index prestasi kumulatif

SMF = Sekolah Menengah Farmasi

Terdapat berbagai alasan mahasiswa memasuki program studi farmasi, yaitu keinginan sendiri, tertolak jurusan lain, dan atas keinginan orang tua. Hasil penelitian menunjukkan beberapa mahasiswa semester II yang memasuki program studi farmasi UII karena keinginan diri sendiri (n=70) dan orang tua (n=52). Hasil ini serupa dengan penelitian sebelumnya bahwa pemilihan program studi di perguruan tinggi dipengaruhi oleh motivasi, status sosial orang tua, pekerjaan yang diharapkan, dan lingkungan belajar (Irmawati, 2008). Selain kuliah, ada mahasiswa yang juga mengikuti organisasi sejumlah 24 responden pada semester IV.

Tabel 2. Demografi responden mahasiswa PSPA

Jumlah Responden	Angkatan 35	Angkatan 36	Angkatan 37
	n=93	n=50	n=74
IPK			
< 2	0	0	1
2-3	3	12	10
> 3	90	36	23
Jenis Kelamin			
Laki-Laki	13	15	9
Perempuan	80	35	65
Asal Jurusan			
SMA IPA	80	42	55
SMF	13	8	19
Pilihan Jurusan Farmasi			
ke-1	56	32	49
ke-2	36	18	20
ke-3	1	0	5
Alasan Memilih Farmasi			
Diri Sendiri	57	19	41
Tertolak Jurusan Lain	18	3	18
Orang Lain	18	28	15
Jalur Masuk Farmasi			
PSB	34	23	8
PBT	17	3	15
CBT UII	21	17	27
CBT Non-UII	21	7	24
Aktivitas Selain Kuliah			
Tidak Ada	73	47	61
Organisasi	11	2	9
Kerja	9	1	4
Sumber Biaya			
Orang Tua	88	2	68
Beasiswa	1	46	3
Lain-Lain	4	2	3

Jumlah Responden	Angkatan 35	Angkatan 36	Angkatan 37
	n=93	n=50	n=74
Tempat Tinggal			
Rumah	40	16	20
Kos	52	127	54
Asrama	1	7	0

Tabel 2 menunjukkan bahwa dari mahasiswa PSPA angkatan 35, 36, dan 37 sebagian besar mahasiswa berjenis kelamin perempuan dan $IPK > 3$ terutama pada angkatan sebesar 96,77% (90 responden). Sama halnya dengan responden dari mahasiswa S1 Farmasi, mahasiswa PSPA juga menyampaikan alasan memilih farmasi, yaitu karena keinginan sendiri, tertolak jurusan lain, dan atas keinginan orang tua. Hasil penelitian menunjukkan beberapa mahasiswa yang memilih farmasi karena keinginan orang tua sebanyak 28 responden pada angkatan 36. Berbeda halnya dengan mahasiswa S1 Farmasi, mahasiswa PSPA lebih banyak yang tidak mengikuti kegiatan selain kuliah. Hal ini disebabkan karena aktivitas kuliah mahasiswa PSPA sangat padat.

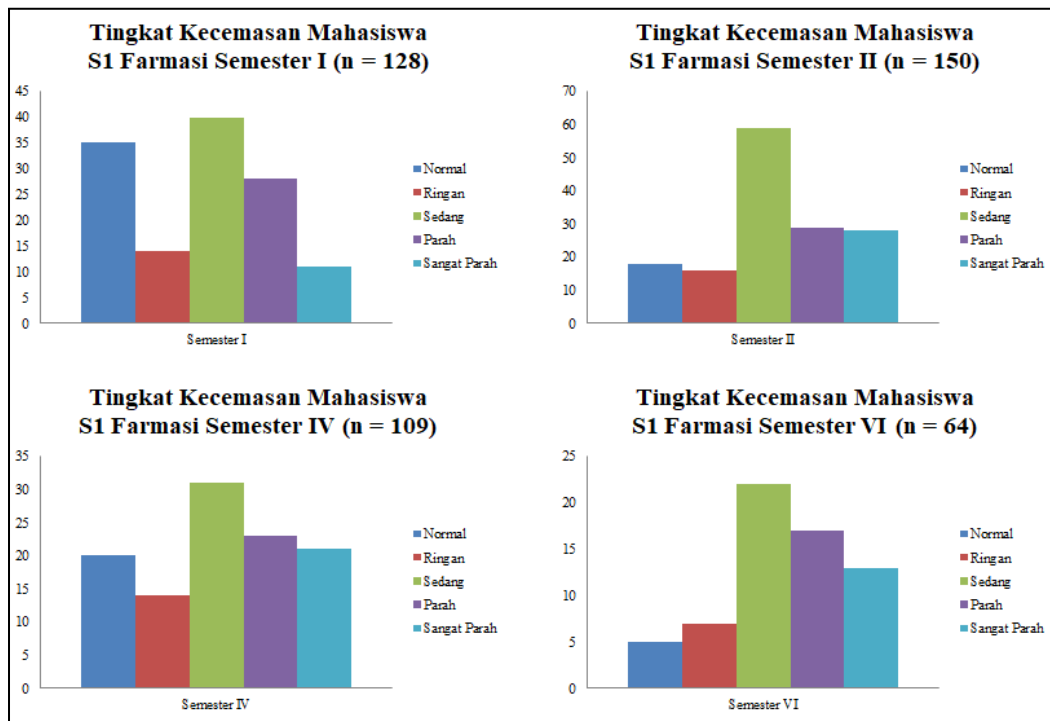
Jenis kelamin perempuan menunjukkan jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan laki-laki. Hal ini sejalan dengan kondisi stress, kecemasan, dan depresi yang sering dialami oleh mahasiswi. Hasil tersebut serupa dengan penelitian sebelumnya di Pakistan yang menunjukkan bahwa mahasiswi merupakan mahasiswa yang mendominasi (Ghayas S, Shamim S, Anjum F, Hussain M., 2014).

3.2 Profil tingkat kecemasan

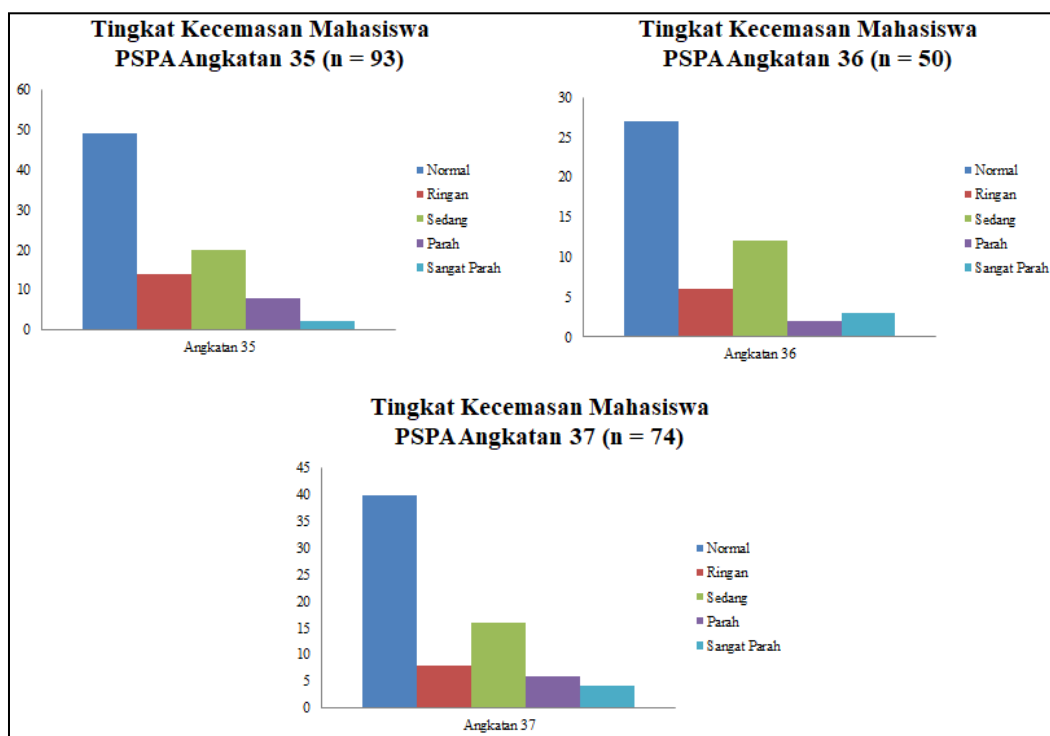
Data profil tingkat kecemasan mahasiswa S1 Farmasi dapat dilihat pada Gambar 1. Tingkat kecemasan responden didominasi oleh kategori sedang pada responden seluruh semester, namun responden yang memiliki tingkat kecemasan normal paling banyak yaitu mahasiswa semester I (n=35). Hal ini dapat disebabkan karena mahasiswa semester I masih berada pada masa adaptasi dari SMA dan perguruan tinggi sehingga kuantitas tugas yang diberikan lebih sedikit dibandingkan dengan mahasiswa semester atas. Tingkat kecemasan kategori sangat parah mayoritas diderita oleh mahasiswa semester VI (n=13). Hasil tersebut berbeda dibandingkan penelitian sebelumnya yang menunjukkan tingkat kecemasan mahasiswa semester I (25%) lebih tinggi dibandingkan semester VI (11%) (Chandratika dan Purnawati, 2014).

Data profil tingkat kecemasan responden mahasiswa profesi apoteker dapat dilihat pada Gambar 2. Sebagian besar mahasiswa PSPA memiliki tingkat kecemasan kategori normal yaitu angkatan 35 (n=49), angkatan 36 (n=27), dan angkatan 37 (n=40). Selain itu, mahasiswa yang memiliki tingkat kecemasan sedang juga cukup banyak, angkatan 35 (n=20), angkatan 36 (n=12),

dan angkatan 37 (n=16). Secara umum, hanya sebagian kecil mahasiswa yang mengalami kecemasan kategori sangat parah dengan jumlah responden paling banyak pada angkatan 37 (n=4).



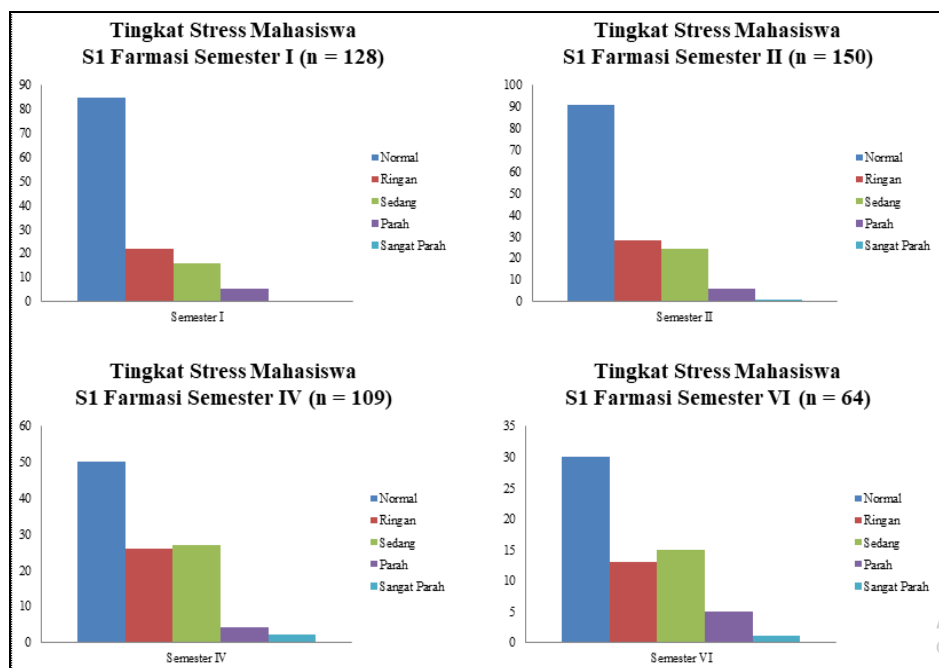
Gambar 1. Profil tingkat kecemasan mahasiswa S1 Farmasi



Gambar 2. Profil tingkat kecemasan mahasiswa PSPA

3.3 Profil tingkat stress

Profil tingkat stress responden mahasiswa S1 Farmasi menunjukkan mayoritas mahasiswa tingkat stress normal. Tingkat kecemasan ringan paling banyak diderita mahasiswa semester II (n=28). Pada semester I dan II tidak ada mahasiswa yang memiliki tingkat stress sangat parah, namun pada semester IV dan VI terdapat mahasiswa yang mengalami stress sangat parah yaitu 2 dan 1 responden (Gambar 3). Begitu pula pada mahasiswa PSPA juga sebagian besar memiliki kategori stress normal, namun tidak ada mahasiswa yang mengalami stress sangat parah. Terdapat mahasiswa yang memiliki stress kategori ringan, yaitu angkatan 35 (n=10), 36 (n=3), dan 37 (n=9). Stress dapat muncul karena kemampuan individu dan tuntutan yang tidak seimbang sehingga kesenjangan yang semakin besar dapat menyebabkan tingkat stress yang lebih tinggi (Tabroni *et. al.*, 2021).

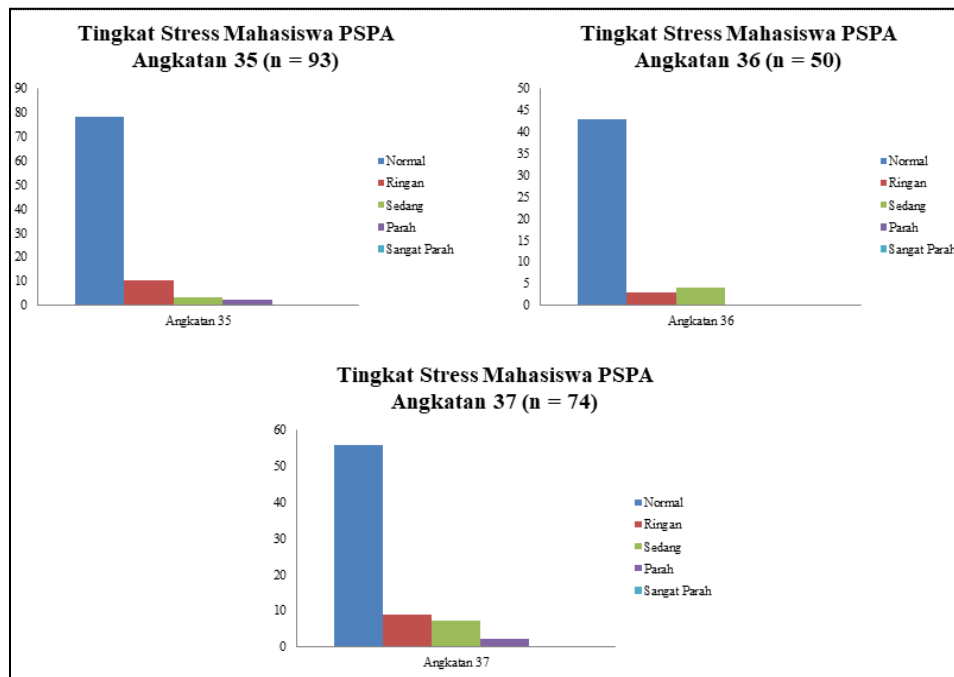


Gambar 3. Profil tingkat stress mahasiswa S1 Farmasi

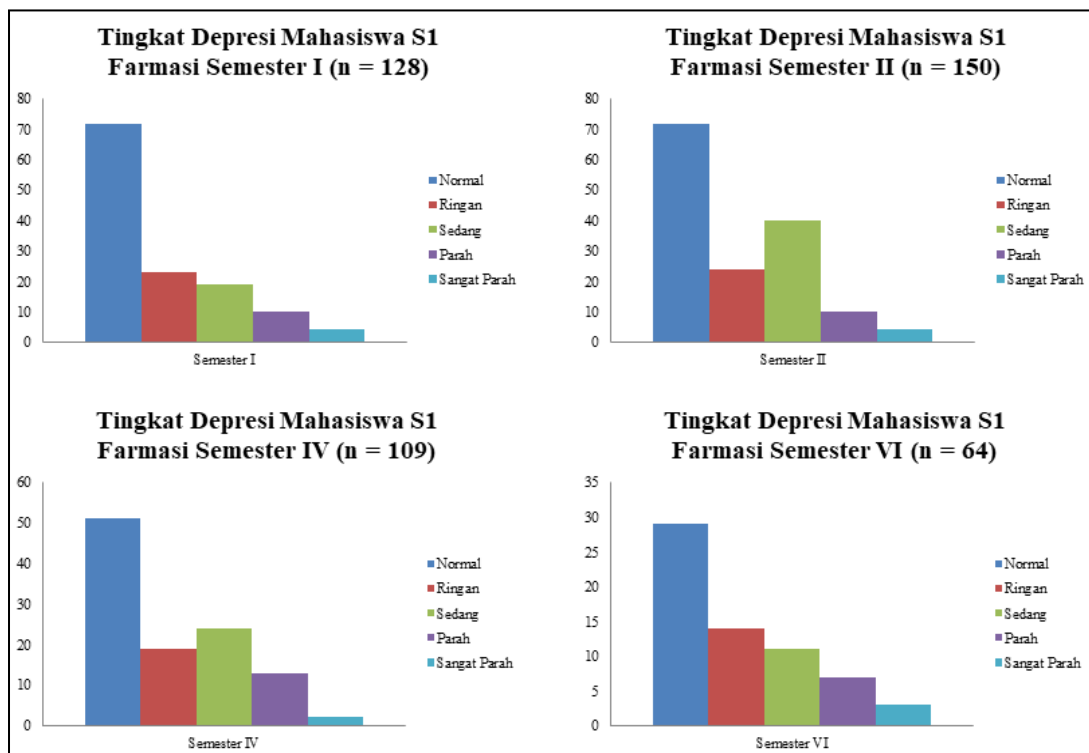
3.4 Profil tingkat depresi

Pada semester I dengan total 128 responden, terdapat 4 responden dengan tingkat depresi sangat parah, 10 responden dengan tingkat parah, 19 responden dengan tingkat sedang, 23 responden dengan tingkat ringan, dan 72 responden dengan tingkat normal. Secara umum, dapat dikatakan bahwa tingkat depresi mahasiswa S1 farmasi pada semester I ini adalah ringan. Di semester II dengan total 150 responden, terdapat 4 responden dengan tingkat depresi sangat parah, 10 responden dengan tingkat parah, 40 responden dengan tingkat sedang, 24 responden dengan

tingkat ringan, dan 72 responden dengan tingkat normal. Secara umum, dapat dikatakan bahwa tingkat depresi mahasiswa S1 farmasi pada semester II ini adalah ringan.

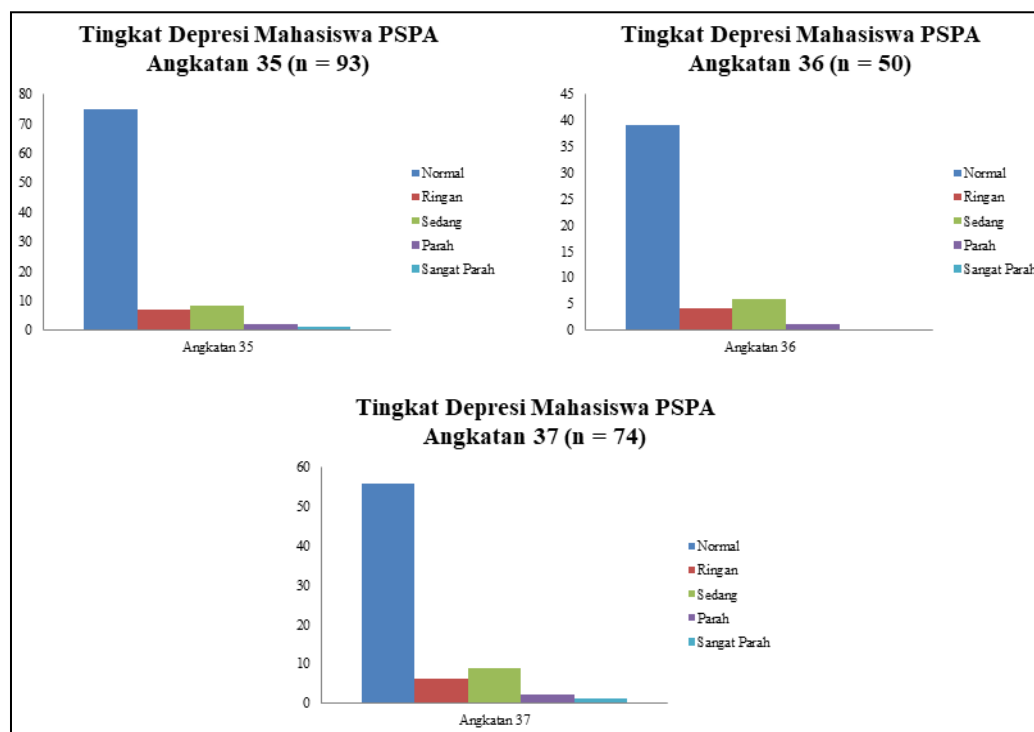


Gambar 4. Profil tingkat stress mahasiswa PSPA



Gambar 5. Profil tingkat depresi mahasiswa S1 Farmasi

Terdapat 2 responden dengan tingkat depresi sangat parah, 13 responden dengan tingkat parah, 24 responden dengan tingkat sedang, 19 responden dengan tingkat ringan, dan 51 responden dengan tingkat normal pada mahasiswa semester IV. Secara umum, dapat dikatakan bahwa tingkat depresi mahasiswa S1 farmasi pada semester IV ini adalah ringan. Di semester VI dengan total 64 responden, terdapat 3 responden dengan tingkat depresi sangat parah, 7 responden dengan tingkat parah, 11 responden dengan tingkat sedang, 14 responden dengan tingkat ringan, dan 29 responden dengan tingkat normal. Secara umum, dapat dikatakan bahwa tingkat depresi mahasiswa S1 farmasi pada semester VI ini adalah ringan (Gambar 4).



Gambar 6. Profil tingkat depresi mahasiswa PSPA

Data profil tingkat depresi mahasiswa profesi apoteker menunjukkan sebagian besar responden tidak mengalami depresi (depresi kategori normal). Mahasiswa yang mengalami depresi pada angkatan 35, 36, dan 37 yaitu sejumlah 8, 6, dan 9 responden. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Asif, Saba & Muddassar, Azka & Zainab, Talala & Raouf, Mobeen & Pervaiz, Tehmina (2020) menunjukkan bahwa kalangan mahasiswa prevalensi depresi dalam rentang normal (25%), ringan (16%), sedang (35,8%), berat (14,6%) dan sangat parah (8,6%). Prevalensi kecemasan ditemukan dalam rentang normal (11,6%), ringan (4,4%), sedang (19,4%), berat (17,8%) dan sangat parah (46,8%). Stres normal (15,6%), ringan (33,8%), sedang (35,4%), berat (13,2%) dan sangat berat (2,8%). Disamping itu, terdapat pula penelitian dengan judul *Stress, anxiety & depression among medical undergraduate students & their socio-demographic correlates* melaporkan lebih dari separuh

respondennya mengalami depresi (51,3%), kecemasan (66,9%) dan stres (53%). Morbiditas ditemukan lebih banyak pada mahasiswa semester 5 dibandingkan mahasiswa semester 2. Mahasiswa perempuan dilaporkan memiliki penilaian yang lebih tinggi dibandingkan dengan mahasiswa laki-laki (Iqbal *et. al.*, 2015; Rizvi *et al.*, 2015).

4. Kesimpulan

Kuesioner DASS efektif untuk mengidentifikasi tingkat kecemasan, stress, dan depresi responden. Mayoritas mahasiswa berada dalam kategori normal, namun masih ditemukan mahasiswa dengan kategori ringan hingga berat. Dengan demikian, kuesioner ini dapat digunakan oleh DPA (dosen pembimbing akademik) untuk memantau perkembangan mahasiswa terutama dalam hal skrining kecemasan, stress, dan depresi.

Ucapan terimakasih

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Islam Indonesia. Oleh karena itu, peneliti menghaturkan terimakasih atas kesempatan yang diberikan.

Daftar pustaka

- Ashari dan Hartati, 2017, Hubungan Antara Stress, Kecemasan, Depresi dengan kecenderungan Aggressive Driving pada mahasiswa, *Journal Empati*, Januari 2017, Volume 6(1), 1-6
- Asif, Saba & Muddassar, Azka & Zainab, Talala & Raouf, Mobeen & Pervaiz, Tehmina. (2020). Frequency of depression, anxiety and stress among university students. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 36. 10.12669/pjms.36.5.1873.
- Dipiro, et all, 2011, Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, 10e, Chapter 70. *Anxiety Disorders Generalized Anxiety Panic and Social Anxiety Disorders*, McGraw-Hill Education, Companies, Inggris.
- Chandratika, D., & Purnawati, S., 2014, Gangguan Cemas Pada Mahasiswa Semester I Dan Vii Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. *E-jurnal Medika Udayana*, 3(4), 1-11.
- Ghayas S, Shamim S, Anjum F, Hussain M. Prevalence and severity of depression among undergraduate students in Karachi, Pakistan: A cross sectional study. *Trop J Pharm Res*. 2014;13(10):1733-1738.
- Iqbal S, Gupta S, Venkatarao E. Stress, anxiety & depression among medical undergraduate students & their socio-demographic correlates. *Indian J Med Res*. 2015;141(3):354-357. doi: 10.4103/0971-5916.156571.
- Irmawati, B. R. (2008). Faktor-faktor yang mempengaruhi mahasiswa dalam memilih program studi di perguruan tinggi. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Jadoon NA, Yaqoob R, Raza A, Shehzad MA, Zeshan SC. Anxiety and depression among medical students: A cross-sectional study. *J Pak Med Assoc*. 2010;60(8):699-702.

- Jogaratnam & Buchanan, 2004, Balancing the demands of school and work: stress and employed hospitality students, *International Journal of Contemporary Hospitality Management*; 2004;16,4/5;ABI/INFORM Global pg. 237
- Lovibond, 1995, Overview of the DASS and its uses: Lovibond (1995) Available at: <http://www2.psy.unsw.edu.au/groups/dass//over.htm>
- Potter, P.A, Perry, A.G. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan: Konsep, Proses, dan Praktik*. Edisi 4. Volume 2. Alih Bahasa : Renata Komalasari, dkk. Jakarta: EGC. 2005
- Rizvi F, Qureshi A, Rajput AM, Afzal M. Prevalence of depression, anxiety and stress (by DASS scoring system) among medical students in Islamabad, Pakistan. *Br J Med Res*. 2015;8(1):69-75. doi: 10.9734/BJMMR/2015/17193.
- Tabroni, I, Nauli, F. A., Arneliwati, 2021, Gambaran Tingkat Stres Dan Stresor Pada Mahasiswa Keperawatan Universitas Negeri. *Jurnal Keperawatan*, 13 (1), 149-164.

Lotion deodorant formulation of ethanolic extract of red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) with stearic acid as base

Formulasi sediaan losion deodoran ekstrak etanolik daun sirih merah (Dasimer) (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) berbasis asam stearat

Lidia ^{1*}, Ensiwi Munarsih¹, Dini Aprilianti¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi

*Corresponding author: lidia.kopertis@gmail.com

Abstract

Background: Red betel leaf (*P. crocatum* Ruiz & Pav) possesses antibacterial properties, so the prospect is to be developed as a deodorant in lotion dosage forms.

Objective: This study was conducted with the intention to prepare, evaluate, and investigate the stability of deodorant lotion preparations from the ethanolic extract of red betel leaf (*P. crocatum* Ruiz & Pav) based on stearic acid.

Methods: The maceration method used 70% ethanol as solvent to obtain red betel leaf extract. Furthermore, the concentrated extract was formulated as a deodorant lotion formula into three formulas, FI, FII, and FIII, with varying concentrations of stearic acid 2, 4, and 6%, respectively. All the deodorant lotion formulas were evaluated, their characteristics and stability of organoleptic, pH, homogeneity, viscosity, spreadability, adhesion, and irritation properties. The physical stability test was done by cycling test. The storage stability test was evaluated for 28 days.

Results: Evaluation of physical properties for 28 days showed that deodorant lotion was homogeneous and pH in the range of 5.5-6.4; viscosity, spreadability, and adhesion tests gave good results and stability. In the irritation test, all formulas showed no irritation. Statistical test paired T-test on stability testing during storage and cycling test showed that the best and most stable formula was F3 with 6% stearic acid concentration.

Conclusion: Ethanolic extract of red betel leaf (*P. crocatum* Ruiz & Pav) can be formulated into a deodorant lotion preparation that is stable and good during storage.

Keywords: deodorant lotion, *Piper crocatum* Ruiz & Pav, stearic acid

Intisari

Latar belakang: Daun sirih merah (Dasimer) (*P. crocatum* Ruiz & Pav) berkhasiat sebagai antibakteri, sehingga prospek untuk dikembangkan sebagai deodorant dalam bentuk sediaan losion.

Tujuan: Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk membuat, mengevaluasi dan melakukan uji stabilitas sediaan losion deodoran dari ekstrak etanol Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) dengan variasi basis asam stearat.

Metode: Ekstrak Dasimer diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% sebagai pelarut. Ekstrak kental etanol yang diperoleh diformulasikan menjadi 3 formula losion yaitu FI, FII dan FIII dengan variasi asam stearate 2, 4 dan 6 %. Formula losion deodoran, dievaluasi karakteristik dan stabilitasnya meliputi organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat dan iritasi. Uji stabilitas fisik dilakukan dengan *cycling test*. Uji stabilitas dalam penyimpanan dievaluasi selama 28 hari.

Hasil: Evaluasi sifat fisik selama 28 hari menunjukkan bahwa deodoran losion homogen dan pH dalam rentang yang baik yakni 5,5-6,4. Pengujian viskositas, daya sebar dan daya lekat juga memberikan hasil yang baik dan stabil. Pada pengujian iritasi, semua formula menunjukkan tidak terjadi iritasi. Uji statistik T-test

berpasangan pada pengujian stabilitas selama penyimpanan dan *cycling test*, menunjukkan bahwa formula yang paling baik dan stabil yaitu F3 dengan konsentrasi asam stearat 6 %.

Kesimpulan: Ekstrak etanol Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) dapat dibuat menjadi sediaan deodoran losion yang stabil dan baik pada saat penyimpanan.

Kata Kunci: losion deodoran, *Piper crocatum* Ruiz & Pav, asam stearat

1. Pendahuluan

Kosmetik adalah bahan atau sediaan yang ditujukan untuk penggunaan bagian luar tubuh manusia yakni epidermis, kuku, bibir, rambut dan termasuk juga organ genital bagian luar, gigi dan juga mukosa mulut. Fungsi utama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan atau memperbaiki bau badan atau pun melindungi atau memelihara tubuh tetap pada kondisi yang baik (MenKes RI, 2010).

Deodoran merupakan salah satu bentuk sediaan kosmetika yang penggunaannya ditujukan untuk mengatasi bau badan yang disebabkan oleh keringat yang apabila bercampur dengan bakteri dapat menyebabkan bau badan. Beberapa bakteri yang diduga menjadi penyebab bau badan yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginos*, *Corybacterium acne*, *Pseudomonas aerugino*, *Streptococcus pyogenes* serta *Staphylococcus aureus* (Lailiyah dkk, 2019). Secara komersial deodoran yang telah beredar dipasaran mempunyai beberapa bentuk seperti bentuk sediaan cair, batang, cream, jeli, serbuk, losion, dan bentuk aerosol (Agoes, 2015).

Meninjau dengan banyaknya efek samping yang diakibatkan oleh penggunaan deodoran yang telah beredar di pasar seperti halnya iritasi pada kulit ketiak, oleh karena itu perlu bahan baku deodoran yang lebih aman yakni dengan memanfaatkan bahan alami. Tanaman Dasimer dengan nama ilmiah *P. crocatum* Ruiz & Pav adalah satu di antara beberapa tanaman yang memiliki khasiat sebagai antibakteri sehingga dapat dipilih menjadi bahan aktif deodoran karena keefektifannya sebagai antibakteri dan sekaligus mengatasi bau badan (Umami, 2019).

Adapun senyawa kimia yang ada dalam Dasimer adalah alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, saponin, minyak atsiri (Umami, 2019) serta untuk ekstrak etanol Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) dapat menghambat bakteri pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Candrasari dkk, 2012).

Dari latar belakang tersebut, maka dilakukanlah penelitian mengenai formulasi losion deodoran ekstrak etanol Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) dengan menggunakan variasi basis asam stearat.

2. Metode

2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah antara lain, Dasimer, asam stearat, alfa tokoferol, setil alkohol, trietonolamin, metil paraben, propil paraben, gliserin, minyak esensial lemon, akuades, etanol 70%, kertas saring.

2.2. Pengambilan sampel tanaman

Tumbuhan sirih merah didapatkan dari Desa Beringin, Kecamatan Lubai, Kabupaten Muara Enim.

2.3. Proses pembuatan ekstrak

Ekstraksi Dasimer dilakukan dengan cara merendam simplisia dengan etanol 70% selama 5 hari dengan 3 kali pengulangan, sambil sesekali di aduk setiap hari. Hasil maserasi yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotari *evaporator*.

2.4. Formulasi dan pembuatan losion deodoran

Komposisi formula losion deodoran dari ekstrak Dasimer tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Orientasi formulasi losion deodoran Dasimer (100 g)

Bahan (g)	Jumlah bahan		
	FI	FII	FIII
Ekstrak etanol sirih merah	7,5	7,5	7,5
Asam stearate	2	4	6
Alfa tokoferol	0,05	0,05	0,05
Setil alkohol	3	3	3
Trietonolamine	3	3	3
Metil paraben	0,1	0,1	0,1
Propil paraben	0,1	0,1	0,1
Gliserin	10	10	10
Minyak essensial lemon	0,7	0,7	0,7
Akuades ad	100	100	100

Fase air dibuat dengan cara memanaskan akuades di atas *waterbath* setelah panas dimasukkan metil paraben hingga larut, kemudian dimasukkan TEA berurutan dengan gliserin, dan diaduk sampai homogen. Fase minyak yakni setil alkohol, propil paraben dan asam stearat ditempatkan pada wadah terpisah, dipanaskan diatas *waterbath* pada suhu mencapai 70°C. Fase minyak ditambahkan ke fase air kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *homogenizer*. Selanjutnya, ekstrak etanol Dasimer ditambahkan sedikit demi sedikit, alfa tokoferol dan minyak esensial lemon hingga tercampur homogen. Kemudian dikemas dan dimasukkan ke dalam wadah yang sesuai.

2.5. Pengujian stabilitas formula

Seluruh pengujian stabilitas pada masa penyimpanan dilakukan pada ketiga formula yakni FI, FII dan FIII. Periode penyimpanan selama 28 dan pengujian sampel dilakukan pada hari ke ke-0, ke-7, -14, -21 dan -28.

2.5.1. Uji organoleptis

Uji organoleptik dilakukan dengan cara sebagai berikut, sejumlah sampel dari masing-masing formula losion deodorant ekstrak etanol Dasimer (F2, F2 dan F3), diperiksa tekstur, bau, dan perubahan warnanya selama masa penyimpanan 28 hari. Hasil pengamatan bisa diambil gambarnya dan dicatat (Ervianingsih & Razak, 2019).

2.5.2. Uji homogenitas

Uji homogenitas dapat dilakukan dengan mengambil sediaan losion deodoran kemudian diletakkan di atas kaca objek, lalu diratakan dengan menggunakan kaca objek lainnya. Kemudian diamati, apakah terlihat adanya partikel-partikel kasar pada sediaan, lalu dicatat hasilnya (bila perlu diambil gambarnya) selama masa penyimpanan (Ervianingsih & Razak, 2019).

2.5.3. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan cara sebagai berikut, sampel losion deodoran ditimbang kurang lebih 1 gram. Sampel dimasukkan ke dalam gelas kimia kemudian dilarutkan dengan aquadest. Setelah itu dimasukkan elektroda kedalam gelas kimia yang berisi sampel uji hingga nilai pH pada layar. Hasil pengujian pH dicatat dan diamati perubahan pH-nya selama masa penyimpanan (Erviansih & Razak, 2019).

2.5.4. Uji viskositas

Sejumlah sampel (FI, FII dan FIII) dimasukkan dalam *cup* pada viscometer Brookfield, kemudian *spindle* ukuran 4 dipasang dan rotor dijalankan dengan kecepatan 60 rpm. Nilai viskositas yang tertera pada layar dikalikan dengan faktor koreksi 200 (Timur dkk, 2019). Kisaran nilai viskositas yang dipersyaratkan yaitu berada dalam kisaran nilai 2000-8000 cPs (*centipoise*) (Daud dkk, 2018).

2.5.5. Uji daya sebar

Pengujian daya sebar dilakukan dengan cara sebagai berikut, sampel losion ditimbang sebesar 0,5 gram dan diletakkan di tengah kaca bulat. Kaca bulat lainnya diletakkan di atas sediaan dan beri beban 125 gram. Lalu diamkan selama 1 menit, kemudian diameter penyebarannya diukur dan dicatat. Daya sebar losion yang baik itu bila berada di kisaran 5-7 cm (Mardikasari dkk, 2017).

2.5.6. Uji daya lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan cara sebagai berikut, sebanyak 0,25 gram sediaan losion ditimbang, lalu diletakkan dititik tengah luasan objek gelas yang telah tandai dan ditutup dengan objek gelas lain. Kemudian diberi beban 100 gram selama 5 menit lalu kedua objek gelas yang telah saling melekat 1 sama lain dipasang pada alat uji yang diberi beban 80 gram. Setelah itu dicatat waktu yang diperlukan hingga terpisah 2 objek gelas tersebut. Pengujian dilakukan selama masa penyimpanan (Megantara dkk, 2017).

2.6. Cycling test

Uji kestabilan sediaan pada *cycling test* ini dilakukan dengan cara sebagai berikut, sediaan deodoran disimpan di dalam suhu 4°C selama 24 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 24 jam, siklus ini dihitung sebagai satu siklus. Pengujian stabilitas pada pH dan viskositas ini dilakukan sebanyak 6 siklus (Sari, 2019).

2.7. Uji iritasi

Pengujian ini dilakukan pada 10 orang sukarelawan terhadap masing-masing formula dari sediaan. Losion sebanyak 0,1-0,5 gram dioleskan dibelakang telinga kemudian dibiarkan selama 24 jam setelah itu dilakukan pengamatan dan dicatat hasil pengamatannya (Wasitaatmadja, 1997).

2.8. Analisa data

Data yang diperoleh berupa hasil pengamatan dari segi fisik meliputi data organoleptis, pH, viskositas, homogenitas, daya sebar, daya lekat, data iritasi disajikan dalam bentuk tabel kemudian dianalisa secara deskriptif. Data pH dan viskositas selama masa penyimpanan 28 hari dan pada *cycling test* dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisa uji T berpasangan untuk mengetahui perubahan pH dan viskositas sebelum dan sesudah penyimpanan dan akhir siklus pengujian.

3. Hasil dan pembahasan

Tumbuhan Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) diperoleh dari Desa Beringin Kecamatan Lubai Kabupaten Muara Enim. Proses pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi yaitu maserasi. Metode ini dipilih karena pengerjaannya yang mudah dan alat yang digunakan pun sederhana dan juga cocok untuk sampel yang tidak tahan terhadap pemanasan. Daun disortir, dicuci dan dikering-anginkan kemudian dihaluskan dan dimaserasi

menggunakan etanol 70%. Dari pengerjaan ekstraksi didapatkan ekstrak kental sebanyak 336 gram dan didapatkan persen rendemen 14,28% (^b/_b).

Dalam penelitian ini dilakukan formulasi sediaan losion deodoran dengan variasi konsentrasi asam stearat sebagai basis, dan zat aktif yang digunakan Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) sebagai antibakteri, alfa tokoferol sebagai antioksidan, setil alkohol sebagai *emolient*, trietonolamin sebagai *emulgator*, metil paraben sebagai pengawet, propil paraben sebagai pengawet, gliserin sebagai humektan, dan minyak esensial lemon sebagai pewangi.

Sediaan deodoran yang telah ditambahkan bahan-bahan tambahan dalam formula dengan variasi konsentrasi asam stearat sebagai basis mempengaruhi sifat fisik dari sediaan tersebut. Semakin tinggi konsentrasi asam stearat yang digunakan maka semakin baik bentuk sediaan yang dihasilkan (Ervianingsih & Razak, 2019). Oleh karena itu, penggunaan asam stearat memiliki peran penting dalam pembuatan sediaan. Asam stearat dapat menghasilkan basis sediaan yang stabil serta membantu mengikat dan mengentalkan sediaan sehingga menghasilkan bentuk sediaan yang baik dan memiliki waktu simpan lebih lama (Safira & Sari, 2014).

3.1. Pemeriksaan organoleptis

Hasil uji organoleptis sediaan losion deodoran dari ekstrak Dasimer dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengamatan organoleptis sediaan losion deodoran

Formula	Pemeriksaan organoleptis		
	Warna	Bau	Bentuk
FI	CK	BK	SK
FII	CK	BK	SK
FIII	CK	BK	SK

Keterangan : CK : Coklat Kekuningan

BK : Bau Khas

SK : Sedikit Kental

Hasil pemeriksaan organoleptis menunjukkan bahwa penambahan ekstrak Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) pada FI, FII dan FIII menghasilkan warna dari ketiga formula sediaan losion deodoran menjadi coklat kekuningan, dengan bau khas dan ketiga formula sediaan tersebut memiliki bentuk sedikit kental. Ketiga formula sediaan tersebut menghasilkan sediaan yang stabil secara organoleptis selama masa penyimpanan 28 hari.

3.2 Homogenitas

Uji homogenitas sediaan losion deodoran dari ekstrak Dasimer sebagaimana tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengamatan homogenitas sediaan losion deodoran

Hari ke-	FI	FII	FIII
0	Homogen	Homogen	Homogen
7	Homogen	Homogen	Homogen
14	Homogen	Homogen	Homogen
21	Homogen	Homogen	Homogen
28	Homogen	Homogen	Homogen

Hasil pengujian homogenitas menunjukkan bahwa ketiga formula memiliki karakteristik yang homogen selama masa penyimpanan 28 hari. Sediaan disebut homogen jika pada saat pengujian tidak terdapat partikel-partikel kasar pada sediaan losion deodoran, serta warna tercampur secara merata.

3.2. Pengujian pH

Pengujian pH sediaan losion deodoran dari ekstrak Dasimer sebagaimana tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengukuran pH sediaan losion deodoran

Hari ke-	Rata-rata pH \pm SD		
	FI	FII	FIII
0	6,4 \pm 0,05	6,0 \pm 0,05	5,8 \pm 0,10
7	6,3 \pm 0,10	6,0 \pm 0,05	5,7 \pm 0,05
14	6,2 \pm 0,05	6,0 \pm 0,05	5,6 \pm 0,05
21	6,1 \pm 0,05	5,9 \pm 0,05	5,5 \pm 0,10
28	6,0 \pm 0,05	5,8 \pm 0,10	5,5 \pm 0,05

Pemeriksaan pH sediaan losion deodoran ekstrak etanol Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) menggunakan alat pH meter (Tabel 4). Nilai pH dalam sediaan berada pada kisaran pH kulit yang sesuai dengan standar SNI dengan pH yaitu kisaran pH 4,5-8,0 agar tidak terjadi iritasi pada kulit. Bila pH sediaan berada di luar interval pH kulit dikhawatirkan akan menyebabkan terjadinya iritasi pada kulit sedangkan bila berada di atas pH kulit dapat menyebabkan kulit terasa cepat kering (Mardikasari dkk, 2017). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa FI, FII dan FIII memasuki rentang pH sediaan deodoran. Hasil pH tertinggi dengan nilai rata-rata pH 6,4 dan nilai terendah 5,5. Untuk hasil uji T berpasangan untuk sediaan selama penyimpanan 28 hari menunjukkan bahwa pada FI dan FII ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara pH sebelum dan sesudah penyimpanan sedangkan FIII nilai signifikansi $p \geq 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan antara pH sebelum dan sesudah penyimpanan pada formula selama masa penyimpanan 28 hari. Hal ini menunjukkan bahwa FIII merupakan formula yang paling stabilnya pHnya.

3.4. Viskositas

Uji viskositas sediaan losion deodoran dari ekstrak Dasimer sebagaimana tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengukuran viskositas sediaan losion deodoran

Hari ke-	Rata-rata viskositas (cps) \pm SD		
	FI	FII	FIII
0	3316 \pm 76,37	4733 \pm 125,83	6083 \pm 354,72
7	3066 \pm 125,83	4633 \pm 57,73	6066 \pm 305,50
14	3066 \pm 208,16	4566 \pm 251,66	6016 \pm 325,32
21	3033 \pm 76,37	4466 \pm 152,75	5950 \pm 529,15
28	2550 \pm 150	4266 \pm 236,29	5773 \pm 57,73

Pengujian viskositas menunjukkan bahwa ketiga formula sebelum penyimpanan selama 28 hari mengalami peningkatan (Tabel 5). Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi asam stearat yang digunakan maka sediaan yang dihasilkan semakin kental dan viskositas yang dihasilkan nilainya tinggi.

Setelah penyimpanan sediaan selama 28 hari terjadi penurunan viskositas pada semua formula (Tabel 5). Penurunan viskositas yang terjadi kemungkinan disebabkan oleh menurunnya aktivitas alfa tokoferol yang berperan sebagai antioksidan pada sediaan, sehingga minyak dalam sediaan akan teroksidasi yang akan mengubah sifat minyak tersebut menjadi asam dan menyebabkan terjadinya penurunan viskositas sediaan (Mardikasari dkk, 2017). Meskipun pada pengujian viskositas dari ketiga formula mengalami penurunan akan tetapi ketiga formula tersebut masih memasuki rentang viskositas yaitu 2000-8000 (Cps) (Daud dkk, 2018). Berdasarkan uji T berpasangan FI, FII, dan FIII menunjukkan hasil bahwa FIII juga paling stabil viskositasnya karena hanya pada FIII tidak ada perbedaan yang signifikan sebelum dan sesudah penyimpanan selama 28 hari ($p \geq 0,05$). Sedangkan pada FI dan FII menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$) antara sebelum dan sesudah penyimpanan selama 28 hari yang mengindikasikan ketidakstabilan viskositas pada kedua formula tersebut.

3.5. Daya sebar

Pengujian daya sebar sediaan losion deodoran dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengukuran daya sebar sediaan losion deodoran

Hari ke-	Rata-rata daya sebar (cm) \pm SD		
	FI	FII	FIII
0	6,25 \pm 0,03	5,87 \pm 0,03	5,42 \pm 0,02
7	6,38 \pm 0,06	5,95 \pm 0,03	5,51 \pm 0,02
14	6,47 \pm 0,02	5,99 \pm 0,01	5,57 \pm 0,04
21	6,54 \pm 0,01	6,09 \pm 0,05	5,64 \pm 0,02
28	6,75 \pm 0,18	6,16 \pm 0,03	5,78 \pm 0,07

Pada pengujian daya sebar (Tabel 6), terlihat bahwa FI, FII dan FIII memiliki rentang daya sebar sediaan yang baik yaitu 5-7 cm dimana nilai penyebaran tertinggi 6,75 cm dan nilai terendah 5,42 cm selama penyimpanan 28 hari, sehingga dapat disimpulkan selama masa penyimpanan daya sebar sediaan stabil.

3.6. Daya lekat

Uji daya lekat sediaan losion deodoran dari ekstrak daun sirih tersaji pada Tabel 7.

Tabel 7. Pengukuran daya lekat losion deodoran

Rata-rata daya lekat (detik) ± SD			
Hari ke-	FI	FII	FIII
0	4,16± 0,01	4,47± 0,02	5,28± 0,03
7	4,13± 0,01	4,39± 0,02	5,20± 0,03
14	4,09± 0,01	4,36± 0,01	5,02± 0,03
21	4,04± 0,03	4,28± 0,02	4,88± 0,09
28	4,02± 0,02	4,19± 0,05	4,60± 0,09

Hasil pengujian daya lekat selama penyimpanan 28 hari mengalami penurunan pada ketiga formula (Tabel 7). Meskipun pada pengujian daya lekat dari ketiga formula mengalami penurunan akan tetapi pemeriksaan daya lekat menunjukkan bahwa sediaan losion deodoran ekstrak etanol Dasimer (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dari ketiga formula tersebut memenuhi syarat uji daya lekat yaitu tidak kurang dari 4 detik (Megantara, dkk 2017).

3.7. Cycling test

Hasil uji stabilitas dengan metode *cycling test* pada pH dan viskositas tersaji pada Tabel 8 dan 9.

Tabel 8. Pengamatan *cycling test* pH

Siklus ke-	Rata-rata <i>cycliing test</i> pH ± SD		
	FI	FII	FIII
0	6,4±0,05	6,0±0,05	5,7±0,05
1	6,2±0,05	5,9±0,05	5,7±0,05
2	6,2±0,50	5,9±0,05	5,6±0,05
3	6,2±0,10	5,8±0,05	5,6±0,10
4	6,1±0,10	5,8± 0,10	5,6±0,05
5	6,0±0,05	5,8±0,10	5,5±0,50
6	5,9±0,05	5,7±0,05	5,5±0,05

Pemeriksaan organoleptis setelah dilakukan *cycling test* selama penyimpanan 6 siklus pada ketiga formula memberikan hasil tidak terjadinya perubahan bentuk, bau dan warna. Hal ini menunjukkan bahwa dari pengujian organoleptis semua formula dikatakan stabil. Pada pengujian pH berdasarkan *cycling test* (Tabel 8) didapatkan hasil penurunan nilai pH pada masing-masing formula sediaan selama penimpanan 6 siklus, namun penurunan yang

signifikan terjadi pada FI dan FII ($p \leq 0,05$) sedangkan pada FIII tidak signifikan ($p \leq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa FIII mempunyai stabilitas pH yang lebih bagus dibandingkan FI dan FII. Kestabilan pH selain dipengaruhi oleh formula, juga bisa dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan yang berubah-ubah khususnya perubahan temperatur yaitu pada suhu rendah dan suhu tinggi dan kondisi lingkungan (Gozali dan Zaini, 2014).

Tabel 9. Pengamatan *cycling test* viskositas

Siklus ke-	Rata-rata viskositas(Cps) \pm SD		
	FI	FII	FIII
0	3166 \pm 104,08	4766 \pm 76,37	6300 \pm 132,28
1	3166 \pm 104,08	4766 \pm 76,37	6300 \pm 132,28
2	3000 \pm 100,00	4433 \pm 76,37	5950 \pm 50,00
3	2933 \pm 76,37	4200 \pm 312,24	5900 \pm 50,00
4	2750 \pm 86,60	4150 \pm 200,00	5816 \pm 125,83
5	2733 \pm 125,83	3966 \pm 175,59	5806 \pm 40,41
6	2583 \pm 28,86	3516 \pm 425,24	5900 \pm 100,00

Pada pengujian viskositas berdasarkan *cycling test* didapatkan hasil bahwa terjadi penurunan viskositas sediaan losion deodoran pada masing-masing formula (Tabel 9). Namun berdasarkan uji T-berpasangan, ternyata di antara ketiga formula, FIII mengalami perubahan yang signifikan yakni $p = 0,094$ ($p \leq 0,05$) pada siklus *cycling test*. Hal ini menunjukkan bahwa FIII paling tidak stabil viskositasnya dibandingkan dengan FI dan FII.

3.8. Uji iritasi

Uji iritasi sediaan losion deodoran ekstrak Dasimer tersaji Tabel 10

Tabel 10. Pengamatan iritasi losion deodoran

Panelis	FI	FII	FIII
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-

Keterangan : + : Terjadi Iritasi
- : Tidak terjadi iritasi

Data Tabel 8 menunjukkan bahwa sediaan losion deodoran ekstrak Dasimer aman dan tidak mengiritasi pada kulit sukarelawan. Dari hasil uji iritasi yang dilakukan terhadap 10 sukarelawan untuk ketiga formula didapatkan hasil bahwa ketiga formula tersebut tidak menyebabkan iritasi kulit seperti kemerahan dan bengkak serta gatal pada kulit (Tabel 10). Hal

ini menunjukkan bahwa ketiga formula sediaan deodoran tersebut dinyatakan aman untuk digunakan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pemeriksaan sediaan losion deodoran ekstrak Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) dengan variasi asam stearat sebagai basis maka didapatkan kesimpulan dari ketiga formula losion deodoran ekstrak etanol Dasimer (*P. crocatum* Ruiz & Pav) 7,5%, formula yang paling baik dan stabil yaitu FIII dengan konsentrasi asam stearat 6%.

Daftar Pustaka

- Agoes, G. (2015). *Sediaan Kosmetik (SF1-9)*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Candrasari, A., Romas, M.A., Hasbi, M dan Astuti, O.R. (2012). Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruits & Pav) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 Dan *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In vitro. *Jurnal Biomedika*, 4 (1) : 9-16.
- Daud, N. S., Musdalipah., dan Idayati. (2018). Optimasi Formula Lotion Tabir Surya Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costariensis*) Menggunakan Metode Desain D-Optimal. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 4 (2) : 72-77.
- Ervianingsi dan Razak., A. (2019). Formulasi Sediaan Deodoran Lotion Dari Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *Jurnal Fenomena Kesehatan*, 2 (1) : 188-196.
- Gojali, D., dan Zaini, A.N. (2014). Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Obat sediaan Suspensi. *Farmaka*, 14 (2): 1-6.
- Lailiyah, M., Sukmana, P.H., Yudha, E. (2019). Formulasi Deodora Roll On Ekstrak Daun Waru (*Hiiscus tiliaceus*) Pada Konsentraasi 3%; 5%; 8% Dan Uji Aktivitas Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Chendekia Journal of Pharmacy*, 3 (2) : 106-114.
- Mardikasari, S.A., Mallarangeng, A.N., Zubaydah, W.O. (2017). Formulasi dan Uji Stabilitas Lotion dari Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 3 (2): 28-32.
- Megantara, I.N., Megayanti, K., Wirayanti, R., Esa, I.B., Wijayanti, N.P., Yustiantara, P.S. (2017). Formulasi Lotion Ekstrak Buah Raspberry (*Rubus rosifolius*) dengan Variasi Konsentrasi Trietanolamin sebagai Emulgator Serta Uji Hedonik Terhadap Lotion. *Jurnal Farmasi Udayana*, 6 (1) : 1-5.
- Menkes RI. (2010). *Peraturan Menteri Kesehatan RI No.1176 Tentang Notifikasi Kosmetika*. Jakarta : Menteri Kesehatan RI.
- Safira, D., dan Sari, D. (2014). Pengaruh Konsentrasi Asam Stearat Terhadap Karakteristik Sediaan Dan Pelepasan Krim Kurkumin. *Jurnaal Pharmascience*. 4 (1) : 14-17.
- Sari, E. P. (2019). Formulasi Sediaan Deodorant Stick Dari Ekstrak Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr) Dan Uji Kestabilan Fisiknya. *KTI*. Politeknik Kesehatan, Palembang.
- Timur, Willi, W., Fadzil, L. (2019). Formulasi Sediaan Deodoran dalam bentuk krim menggunakan Kombinasi Aluminium Sulfat dan Minyak Kayu Cendana. *Ad-Dawaa Journal of Pharmaceutical Science*, 2 (1), 6-15.
- Umami, Z. (2019). Formulasi dan Evaluasi Sabun Cair Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Riuts & Pav) Serta Uji Aktivitas Sebagai Antiseptik Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Institut Kesehatan Helvetia, Medan.

Wasitaatdmaja, S. (1997).*Penuntun Ilmu Kosmetik Medis*. Jakarta : Universitas Indonesia press.
Zulkarnain, A.K., Susanti, M. dan Lathifa, N. (2013). The Physical Stability of lotion O/W and W/O from *Phaleria macrocarpa* Fruit Extract As Sunscreen and Primary Irritation Test on Rabbit.*Traditional Medicine Journal*, 18 (3): 141-150

Antioxidant activity, total flavonoid, and total tannin content of ethanol extract of avocado peel (*Persea americana* Mill.)

Aktivitas antioksidan, kandungan flavonoid total, dan tanin total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.)

Rini Isromarina^{1*}, Doddy Rusli¹, Deva Ulan Sari¹

¹Bhakti Pertiwi College of Pharmacy, Palembang, Indonesia

*Corresponding author: riniisromarina@gmail.com

Abstract

Background: Avocado is a plant that can grow in tropical climates. In general, people only consume the fruit while the skin and seeds are not used. Avocado fruit, skin and seeds contain secondary metabolites such as flavonoids and tannins which have antioxidant activity.

Objective: To determine antioxidant activity, total flavonoid, and total tannin content of the ethanol extract of avocado peel.

Methods: *P. americana* Mill. was collected from Lubuk Linggau, South Sumatra. The ethanol extract of *P. americana* Mill. peel obtained by maceration with ethanol. Qualitative analysis of flavonoids using Mg and HCl while tannins using FeCl₃. Determination of total flavonoid content was carried out with AlCl₃ reagent and Folin-Ciocalteu reagent to determine the total tannin content and was measured by a UV-Vis Spectrophotometer. Determination of antioxidant activity using the DPPH method.

Result: The results of the qualitative analysis showed that ethanol extract of avocado peel contained flavonoids and tannins. It also had antioxidant activity with IC₅₀ of 41,93 µg/mL. The total flavonoid and tannin content of it were 125,01 mgQE/g extract and 53,82 mgTAE/g extract respectively.

Conclusion: Ethanol extract of avocado peel had antioxidant activity, while the total flavonoid compounds was higher than the total tannins.

Keywords: antioxidant, DPPH, total flavonoid, total tannins

Intisari

Latar Belakang: Buah, kulit dan biji alpukat mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid dan tanin yang memiliki aktivitas antioksidan. Namun, penelitian terkait kulit alpukat sebagai antioksidan belum banyak dilakukan.

Tujuan: Mengetahui aktivitas antioksidan total flavonoid, total tanin ekstrak etanol kulit alpukat.

Metode: Buah alpukat yang diperoleh dari Lubuk Linggau, Sumatra Selatan diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut etanol. Ekstrak kemudian dianalisis kualitatif untuk mengetahui kandungan flavonoid menggunakan Mg dan HCl dan tanin menggunakan FeCl₃. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan metode DPPH, sedangkan penentuan flavonoid total menggunakan AlCl₃ serta tanin total menggunakan reagen folin ciocalteu yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Hasil: Hasil analisis kualitatif memperlihatkan bahwa ekstrak etanol kulit alpukat mengandung flavonoid dan tanin. Ekstrak etanol kulit alpukat memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan IC₅₀ 41,93 µg/mL. Kandungan flavonoid total dan tanin total ekstrak etanol kulit alpukat masing-masing adalah 125,01 mgQE/g ekstrak dan 53,82 mgTAE/g ekstrak.

Kesimpulan: Ekstrak etanol kulit alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan tanin.

Katakunci: antioksidan, DPPH, flavonoid total, tanin total

1. Pendahuluan

Persea americana Mill. merupakan tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat, salah satunya sebagai penangkal radikal bebas. Tanaman ini banyak tumbuh pada daerah tropis seperti

Sumatera Selatan. Pada umumnya masyarakat hanya mengkonsumsi buahnya saja, sedangkan kulit dan bijinya tidak dimanfaatkan padahal mengandung senyawa metabolit sekunder yang berkhasiat obat, salah satunya adalah sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron dengan cara memberikan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga senyawa radikal tersebut menjadi stabil. Kestabilan terjadi karena elektron pada kulit terluar senyawa radikal menjadi lengkap dan reaksi berantai menjadi terhambat (Winarsi, 2007). Radikal bebas harus distabilkan karena dapat merusak sel sehat sehingga kehilangan fungsi dan struktur sel sehat apabila masuk ke dalam tubuh. Kerusakan sel yang terjadi dapat mengakibatkan beberapa penyakit dan penuaan dini (Liochev, 2013). Kulit, buah dan biji *P. americana* Mill. mengandung senyawa fenol, flavonoid dan tanin (Aminah dkk, 2017; Vinha 2013; Malanggi 2012). Flavonoid dan tanin merupakan golongan senyawa fenol yang memiliki gugus OH yang dapat meredam radikal bebas. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan, total flavonoid, dan tanin kulit buah alpukat yang tumbuh di daerah Lubuk Linggau, Sumatera Selatan.

2. Metode

2.1 Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah botol gelap, alat gelas (pyrex), timbangan analitik (Fujitsu), pipet mikro (Accumax), spektrofotometer UV-VIS (thermo scientific). Bahan yang ini adalah aquabidest, etanol pro analis (Sigma Lab), metanol (Merck), HCl (Sigma Aldrich), Folin-Ciocalteu (Merck), Na₂CO₃ (Merck) dan 1,1-difenil-2-pikrilhidazil (DPPH) (Merck), NaCl, FeCl₃ (Merck), AlCl₃ (Merck), quercetin (Sigma Aldrich), kalium asetat, asam tanat (Merck), asam galat (Sigma Aldrich). Sampel yang digunakan adalah buah alpukat diperoleh di Lubuk Linggau Sumatera Selatan. Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

2.2 Preparasi dan ekstraksi sampel

Kulit alpukat di iris tipis dan dikering anginkan selama 5 hari. Selanjutnya kulit alpukat diblender kasar. Serbuk kasar kulit alpukat 600 g diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol pro analis 70% selama 9 hari. Maserat yang diperoleh diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental, lalu dihitung rendemen.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat hasil ekstrak (g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

2.3 Skrining flavonoid dan tanin

Ekstrak etanol kulit masing-masing 50 mg dilarutkan dengan 5 mL metanol (Merck) lalu dipanaskan. Selanjutnya, ditambahkan serbuk Mg dan 2-3 tetes HCl pekat. Hasil positif terbentuknya warna merah muda atau jingga. Ekstrak etanol kulit dan biji alpukat 50 mg

dilarutkan dengan 5 mL etanol (Sigma Lab). Lalu, ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 . Reaksi positif bila terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman (Marjoni, 2016).

2.4 Uji aktivitas antioksidan

2.4.1 Pembuatan larutan DPPH 0,1 mM

DPPH sebanyak 3,94 mg dilarutkan dengan metanol hingga 100 mL di dalam labu ukur 100 mL. Larutan dihomogenkan hingga diperoleh larutan DPPH 0,1 M.

2.4.2 Pembuatan larutan pembanding asam galat

Asam galat 10 mg ditambahkan metanol 10 mL kedalam labu ukur sehingga konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ lalu dihomogenkan. Larutan induk dipipet 0,25 mL diencerkan dengan metanol hingga volume 25 mL sehingga menjadi 10 $\mu\text{g/mL}$ lalu dibuat konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 $\mu\text{g/mL}$.

2.4.3 Penetapan aktivitas antioksidan

Ekstrak etanol kulit alpukat dengan konsentrasi 100, 80, 60, 40 dan 20 $\mu\text{g/mL}$ dan larutan DPPH masing-masing diambil dengan perbandingan 2:1 dinkubasi selama 30 menit ditempat yang gelap. Selanjutnya, diukur nilai absorbansi dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Kemudian dihitung persen inhibisi dan nilai IC_{50} .

2.5 Kadar total flavonoid dan total tanin

2.5.1 Pembuatan larutan sampel uji

Ekstrak etanol kulit alpukat 25 mg dan dilarutkan dalam 25 mL etanol p.a.

2.5.2 Pembuatan kurva baku quercetin dengan pereaksi AlCl_3

Larutan kuersetin 1 mL dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14 $\mu\text{g/mL}$ masing-masing dimasukkan ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 1 mL AlCl_3 10%, 1 mL kalium asetat 1 mol/L lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 427 nm. Selanjutnya, dibuat kurva kalibrasi hubungan konsentrasi kuersetin $\mu\text{g/mL}$ dan absorbansi sehingga diperoleh persamaan regresi linear.

2.5.3 Penetapan total flavonoid

Ekstrak etanol kulit alpukat 1 mL dimasukan ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 1 mL AlCl_3 10%, 1 mL kalium asetat 1 mol/L lalu dihomogenkan, dan diinkubasi selama satu jam. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 427 nm. Kadar total flavonoid yang diperoleh dinyatakan dengan mg ekuivalen kuersetin/g ekstrak.

2.5.4 Pembuatan kurva baku asam tanat dengan reagen folin-ciocalteu

Larutan standar asam tanat 1 mL dengan konsentrasi 5, 10, 30, dan 40 $\mu\text{g/mL}$ masing-masing dimasukkan ke dalam gelas kimia ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu dibiarkan selama tiga menit, kemudian ditambahkan 1 ml Na_2CO_3 20% jenuh lalu dihomogenkan. Setelah

itu, diinkubasi selama 40 menit. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 655,5 nm. Selanjutnya, dibuat kurva kalibrasi hubungan konsentrasi Folin-Ciocalteu $\mu\text{g/mL}$ dan absorbansi sehingga diperoleh persamaan regresi linear.

2.5.5 Penetapan total tanin

Ekstrak etanol kulit alpukat 1 mL dimasukkan ke dalam gelas kimia ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu dibiarkan selama tiga menit, kemudian ditambahkan 1 ml Na_2CO_3 20% jenuh lalu dihomogenkan. Setelah itu, diinkubasi selama 40 menit. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 655,5 nm. Kadar total tanin yang diperoleh dinyatakan dengan mg ekuivalen asam tanat/g ekstrak.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil ekstraksi 600 g serbuk kasar kulit *Persea americana* Mill. dengan etanol 70% diperoleh ekstrak kental dengan jumlah seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan persen rendemen ekstrak etanol kulit alpukat

Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
46,54	15,51

Berdasarkan skrining fitokimia ekstrak etanol kulit alpukat mengandung flavonoid dan tanin (Tabel 2). Berdasarkan penelitian Vinha dkk (2013), kulit alpukat mengandung fenol, flavonoid dan karatenoid. Menurut Aminah dkk (2017) kulit alpukat yang dimaserasi dengan pelarut etanol 96% mengandung flavonoid. Menurut Pramono (1986) tanin merupakan senyawa fenol dalam bentuk polimer dengan struktur kompleks.

Tabel 2. Skrining flavonoid dan tanin

Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Warna merah bata	+
Tannin	Warna hijau	+

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit alpukat menggunakan DPPH sebagai radikal bebas. Berdasarkan penelitian, ketika ekstrak ditambah dengan DPPH terjadi perubahan warna ungu ke kuning. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara ekstrak etanol kulit alpukat dan DPPH. Menurut Molyneux (2004) senyawa yang berperan sebagai antioksidan akan menangkap radikal sehingga akan mereduksi DPPH membentuk DPPH-H yang tereduksi. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perubahan warna DPPH ungu menjadi kuning. Elektron yang tidak berpasangan pada DPPH telah berpasangan dengan hidrogen pada senyawa antioksidan.

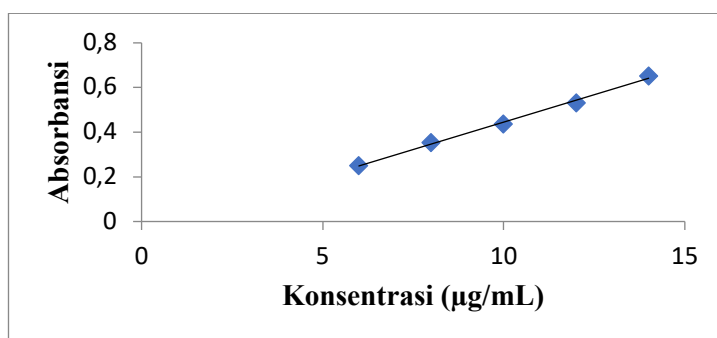
Persen inhibisi aktivitas ekstrak etanol kulit alpukat pada konsentrasi yang berbeda menyebabkan perbedaan kekuatan inhibisi (Tabel 3). Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan menaikkan persen inhibisi. Menurut Duh (1997) peredaman radikal bebas DPPH meningkat dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, namun akan menurun dengan penambahan konsentrasi yang lebih besar lagi (Lai dkk, 2001).

Berdasarkan persen inhibisi tersebut ekstrak etanol kulit alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 41,93 µg/mL dengan kategori kuat (Tabel 3), Menurut Molyneux (2004) nilai IC₅₀ <50 µg/mL sangat kuat, 50-100 µg/mL kuat, 100-150 µg/mL sedang, 150-200 µg/mL lemah.

Tabel 3. Persen inhibisi dan nilai ic₅₀ aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit alpukat

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak Etanol Kulit Alpukat	20	39,25	41,93
	40	46,71	
	60	60,89	
	80	70,44	
	100	82,38	
Asam Galat	1	17,79	4,492
	2	26,12	
	3	34,90	
	4	46,62	
	5	54,50	

Pada penetapan kadar flavonoid menggunakan quersetin dan kadar tanin menggunakan asam tanat, perhitungan menggunakan persamaan regresi linear pada kurva kalibrasi yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin dan asam tanat dengan absorbansi (Gambar 1 dan 2).

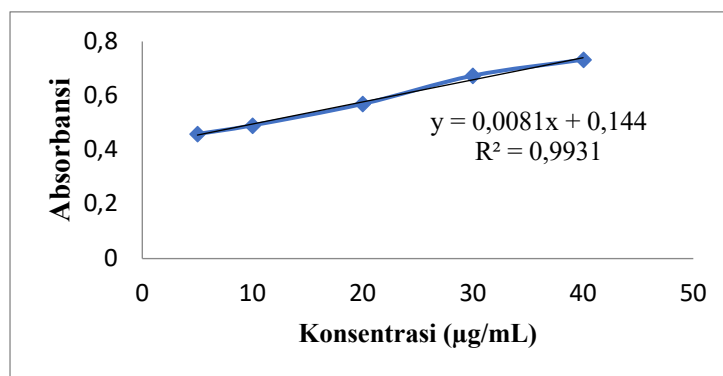


Gambar 1. Kurva kalibrasi kuercetin

Ekstrak etanol kulit alpukat mengandung total flavonoid 125,01 mg QE/g ekstrak dan total tanin 53,82 mgTAE/g ekstrak (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa kadar flavonoid pada ekstrak etanol kulit alpukat lebih tinggi dibandingkan dengan kadar tanin. Menurut penelitian Aminah dkk (2017) ekstrak etanol kulit alpukat mengandung total flavonoid 4,01 mgQE/g ekstrak. Berdasarkan penelitian Vinha dkk (2013) ekstrak kulit alpukat memiliki kadar flavonoid 44,3 mg/100g ekstrak.

Tabel 4. Kadar total flavonoid dan tanin ekstrak etanol kulit alpukat

Kadar total flavonoid	Kadar total tanin
125,01 mgQE/g ekstrak	53,82 mgTAE/g ekstrak



Gambar 2. Kurva kalibrasi asam tanat

Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit *P. americana* Mill. mengandung flavonoid dan tanin yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid lebih kuat berperan sebagai antioksidan dibandingkan dengan tanin pada ekstrak etanol kulit alpukat karena jumlahnya yang lebih banyak. Gugus karboksil pada fenol berperan sebagai pendonor atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas sehingga bersifat sebagai antioksidan dan dapat menstabilkan oksigen reaktif. Flavonoid dan tanin merupakan golongan senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil yang mampu meredam radikal bebas.

4.Kesimpulan

Ekstrak etanol kulit alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 41,93 µg/mL, mengandung total flavonoid 125,01 mg QE/g ekstrak dan total tanin 53,82 mgTAE/g.

Daftar Pustaka

- Aminah *et al.*, (2017), Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2). 226-229
- Duh, P.D., *et al.*, (1997), Antioxidant Activity of Mung Bean Hulls, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74. 1059-1063
- Lai, L.S *et al.*, (2001), Studies on the antioxidative Activities of Hsian-tsao (*Mesona Procumbens* Hemsl) Leaf Gum, *J. Agric. Food Chem.*, (49). 963-968
- Liochev, S. I. (2013), Reactive oxygen species and the free radical theory of aging, *Free Radic Biol Med*, (60). 1- 4
- Malangngi, L.P *et al.*, (2012), Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.), *Jurnal Mipa Unsrat*, 1(1). 5-10
- Marjoni, M.R. (2016). *Dasar-dasar fitokimia diplomat III farmasi*. Jakarta: CV.Trans Info Media
- Molyneux, P. (2004), The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity, *Journals science and technology*, 26(2). 211-219
- Pramono, S. (1986). *Tinjauan Umum Senyawa – Senyawa Fenol Nabati.*: Yogyakarta : UGM
- Vinha, A.F *et al.*, (2013), Physicochemical parameters, phytochemical composition and antioxidant activity of the algarvian avocado (*Persea americana* Mill.), *Journal of Agricultural Science*, 5(12). 100-109
- Winarsih, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius

The immunomodulatory activity of ethanol extract of attarasa bark and fruit (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) toward carbon clearance of mice (*Mus musculus*)

Aktivitas imunomodulator ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) terhadap klirens karbon mencit (*Mus musculus*)

Vivi Asfianti^{1*}, Alfi Sapitri¹, Eva Diansari Marbun¹

¹Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Sari Mutiara Indonesia, Medan, Indonesia

*Corresponding author: vivi.asfianti@yahoo.com

Abstract

Background: Attarasa (*L.a cubeba* (Lour.) Pers.) is a potential Indonesian medicinal plant that is used as a cold remedy, head ulcers, antimicrobials, antioxidants, and anticancer drugs.

Objective: This research was conducted to analyze the immunomodulatory effect of bark (EEKBA) and fruit of attarasa ethanolic extract (EEBA) by detecting its phagocytosis activity in male mice using carbon clearance method.

Method: Total of 24 male mice were divided into 6 groups. Extract was orally administered to mice for 7 days at the dose of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW, and 400 mg/kg BW. Imboost® suspension at the dose of 32.5 mg/kg BW and CMC-Na 1 % suspension was orally administered in positive control, negative control and normal groups. On the 8th day, 0.1 ml carbon suspension was given through intravenous tail injection. The blood samples were withdrawn at 5, 10, 15, and 20 minutes after injection of carbon suspension to find out the carbon absorbance contained in the blood that was measured using spectrophotometer then the carbon elimination speed, phagocytic index, and the stimulation index has been calculated

Result: EEKBA and EEBA at the dose of 400 mg/kg BW induced the higher carbon elimination rate in mice compared to EEKBA and EEBA dose of 100 and 200 mg/kg BW. Phagocytic index of macrophage in mice given with EEKBA and EEBA at dose of 100, 200, dan 400 mg/kg BW were 3.429, 3.501, and 3.925 for EEKBA consecutively; 4.289, 4.375 and 4.732 for EEBA respectively. Stimulation index of macrophage in mice given with EEKBA and EEBA at dose of 100, 200, and 400 mg/kg BW were 1.00; 1.20, 1.02; 1.23, and 1.13; 1.33. Based on the results of statistical test, EEKBA and EEBA administration at the dose of 100, 200, and 400 mg/kg BW stimulate the phagocytosis activity of the macrophage of male mice and significantly has different result compared to normal control group ($p < 0.05$). Phagocytosis activity was best shown at the mice group that administered EEKBA and EEBA at dose of 400 mg/kg BW and was shown not significantly different compared to positive control group ($p > 0.05$).

Conclusion: EEKBA and EEBA have immunomodulatory effect by increasing the phagocytosis activity of mice.

Keywords: immunomodulatory, *Litsea cubeba*, carbon clearance, phagocytosis activity

Intisari

Latar belakang: Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) merupakan tumbuhan obat potensial Indonesia yang digunakan sebagai obat flu, borok dikepala, antimikroba, antioksidan dan antikanker.

Tujuan: Penelitian ini dilakukan untuk dapat mengamati efek imunomodulator Ekstrak Etanol Kulit Batang (EEKBA) dan Ekstrak Etanol Buah Attarasa (EEBA) terhadap aktivitas fagositosis pada mencit jantan dengan menggunakan metode *carbon clearance*.

Metode: Sebanyak 24 ekor mencit jantan dibagi menjadi 6 kelompok. Ekstrak diberikan secara per oral selama 7 hari pada mencit jantan dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB. Suspensi imboost® dengan dosis 32,5 mg/kg BB, suspensi CMC-Na 1% diberikan pada kelompok kontrol positif, negatif, dan normal. Pada hari ke-8 disuntikkan suspensi karbon 0,1 ml secara intravena di ekor mencit. Sampel darah dikumpulkan pada menit ke-5, 10, 15, dan 20 setelah diinjeksi dengan suspensi karbon untuk mengetahui

absorbansi karbon dalam darah yang diukur menggunakan spektrofotometer kemudian dihitung kecepatan eliminasi karbon, indeks fagositosis, dan indeks stimulasinya.

Hasil: EEKBA and EEBA dosis 400 mg/kg BB menghasilkan kecepatan eliminasi karbon yang paling tinggi dibandingkan dengan EEAB dan EEAF 100 dan 200 mg/kg BB. Indeks fagositosis yang dihasilkan dari pemecahan EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB terhadap hewan uji yaitu 3,429; 4,289; 3,501; 4,375 dan 3,925; 4,732. Indeks stimulasi makrofag yang diperoleh setelah hewan uji dipejani dengan EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB yaitu 1,00; 1,20, 1,02; 1,23, dan 1,13; 1,33. Berdasarkan hasil uji statistik, pemberian EEKBA and EEBA pada dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB dapat meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit jantan dan terdapat perbedaan yang signifikan dengan CMC-Na 1% dan kelompok normal ($p < 0,05$). Aktivitas fagositosis yang paling baik ditemukan pada pemberian EEKBA and EEBA dengan dosis 400 mg/kg BB dengan perbedaan yang tidak signifikan terhadap kelompok hewan uji yang diberi Imboost® ($p > 0,05$).

Kesimpulan: EEKBA and EEBA mempunyai efek imunomodulator dengan meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit jantan

Kata kunci: imunomodulator, *Litsea cubeba*, carbon clearance, aktivitas fagositosis.

1. Pendahuluan

Tubuh manusia telah dilengkapi dengan sistem pertahanan yang sangat kompleks untuk menjaganya agar tetap sehat, yang dikenal dengan istilah imun. Imunitas dapat didefinisikan sebagai pertahanan terhadap penyakit, utamanya penyakit yang disebabkan karena infeksi. Sementara itu, sistem imun adalah gabungan antara sel, jaringan, dan molekul yang memerantai pertahanan terhadap infeksi (Sasmito, 2017).

Sediaan farmasi yang memiliki aktivitas sebagai imunomodulator menjadi sangat populer di lingkup industri obat bahan alam ketika masyarakat menyadari peran penting sistem imun dalam mencegah dan membantu pemulihan penyakit infeksi serta memelihara kesehatan (Sasmito, 2017). Namun demikian penggunaan imunomodulator dalam terapi dapat mengalami hambatan, salah satunya adalah mahalnya imunomodulator yang tersedia di pasar obat dalam bentuk paten dan mayoritas diimpor dari luar negeri. Dalam keadaan demikian, sangatlah perlu dipertimbangkan untuk memperoleh imunomodulator dari bahan alam agar faktor harga dapat ditekan (Rahman, dkk, 2016).

Tanaman attarasa adalah penghasil minyak atsiri yang bernilai ekonomis tinggi. Minyak atsiri attarasa dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk kosmetika, sabun, minyak wangi, aromaterapi dan obat-obatan. Namun, kandungan minyak atsiri yang terbanyak terdapat pada kulit batang dibandingkan buahnya. Kulit batang attarasa mengandung saponin, flavonoid dan tanin (Kurniaty, dkk, 2014). Salah satu senyawa yang berpotensi sebagai agen imunomodulator adalah flavonoid. Kandungan senyawa antioksidan ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa berpotensi menghasilkan efek imunomodulator (Azizah, dkk, 2017).

Metode bersihan karbon (*carbon clearance*) merupakan pengukuran secara

spektrofotometri laju eliminasi partikel karbon dari darah hewan. Metode ini dapat merepresentasikan aktivitas fagositosis (Linsentia, 2011).

2. Metode

2.1. Bahan dan alat

Dalam penelitian ini beberapa bahan yang digunakan antara lain: kulit batang dan buah attarasa, etanol p.a (Merck), akuades, tinta cina merk pelican B-17, CMC-Na, tablet imboost® (Soho), natrium sitrat 1%, asam asetat 1%, larutan NaCl 0,9%.

2.2 Identifikasi tumbuhan attarasa dan pembuatan ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa

Sebelum proses ekstraksi dilakukan determinasi tanaman di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta – Bogor KM.46 Cibinong 16911. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam sebuah bejana, ditambahkan dengan 3750 etanol, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil dilakukan pengadukan beberapa kali. Setelah selesai maserasi, maserat dipisahkan dengan ampas. Dilakukan remaserasi kembali selama 2 hari. Maserat yang dihasilkan kemudian dikumpulkan dan diuapkan hingga dihasilkan ekstrak (Ditjen POM, 2000).

2.3 Pembuatan suspensi karbon

Pembuatan suspensi karbon dilakukan dengan cara mensuspensikan 1,6 mL tinta cina pelican B-17 ke dalam 8,4 mL suspensi CMC Na 1% dalam larutan fisiologis NaCl 0,9% (Faradilla dan Maria, 2014).

2.4 Pembuatan suspensi ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa

Sebanyak 1 gram ekstrak etanol kulit batang attarasa ditambahkan sedikit demi sedikit suspensi CMC Na 1% hingga homogen. Setelah homogen, larutan dituangkan dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan dengan suspensi CMC Na 1% hingga garis tanda hingga diperoleh konsentrasi ekstrak etanol kulit batang attarasa 1% (Tambusai, 2018).

2.5 Pengujian efek imunomodulator metode klirens karbon

Uji efek imunomodulator ekstrak etanol kulit batang dan buah Attarasa ditentukan menggunakan metode bersihan karbon dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sejumlah 36 ekor mencit dibagi menjadi 9 kelompok dosis dengan rincian pemejanannya secara peroral satu kali sehari selama 7 hari sebagai berikut:

- Kelompok 1 : tanpa pemejanan
- Kelompok 2 : suspensi CMC-Na 1%
- Kelompok 3 : Imboost® dosis 32,5 mg/kg bb

Kelompok 4	: EEKBA dosis 100 mg/kg bb
Kelompok 5	: EEKBA dosis 200 mg/kg bb
Kelompok 6	: EEKBA dosis 400 mg/kg bb
Kelompok 7	: EEBA dosis 100 mg/kg bb
Kelompok 8	: EEBA dosis 200 mg/kg bb
Kelompok 9	: EEBA dosis 400 mg/kg bb

Pada hari ke-8 setelah 7 hari pemberian suspensi sampel pada masing-masing kelompok, ujung ekor mencit dipotong kemudian darah ditampung dalam tabung yang telah diisi dengan Na-sitrat. Sebanyak 10 µl darah ditambahkan 4 mL asam asetat 1% untuk meliliskan sel darah merah kemudian diukur absorbansinya pada 632 nm menggunakan spektrofotometer. Sampel darah yang pertama kali diambil (menit ke-0) digunakan sebagai blanko. Sebesar 0,1 mL suspensi karbon disuntikkan secara intravena melalui pembuluh darah ekor, dan pada menit ke-5, 10, 15 dan 20 setelah penyuntikan karbon, darah kembali ditampung kemudian dilakukan langkah yang sama seperti pada blanko. Setelah 12 jam diambil darahnya, kemudian hati dan limfa dicatat beratnya (Aldi, dkk., 2013). Setelah pengambilan darah pada ujung ekor mencit tersebut dihitung konstanta kecepatan eliminasi karbon (K), indeks fagositosis (α) dan indeks stimulasi dengan menggunakan rumus:

$$\text{Konstanta kecepatan eliminasi karbon (K)} = \frac{\log OD_5 - \log OD_{20}}{T_2 - T_1}$$

$$\text{Indeks fagositosis} = \frac{k_3^1 \times \text{berat hewan}}{\text{berathati} + \text{berat limfa}}$$

$$\text{Indeks stimulasi} = \frac{\text{indeks fagositosis kelompok uji}}{\text{indeks fagositosis kelompok kontrol}}$$

Keterangan:

OD₅ = absorbansi pada menit ke 5

OD₂₀ = absorbansi pada menit ke 20

T₁ = waktu pertama pengambilan darah

T₂ = waktu terakhir pengambilan darah

= Indeks fagositosis dan indeks stimulasi dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol (Kala *et al.*, 2015)

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Hasil ekstraksi kulit batang dan buah attarasa menggunakan pelarut etanol p.a dengan cara maserasi

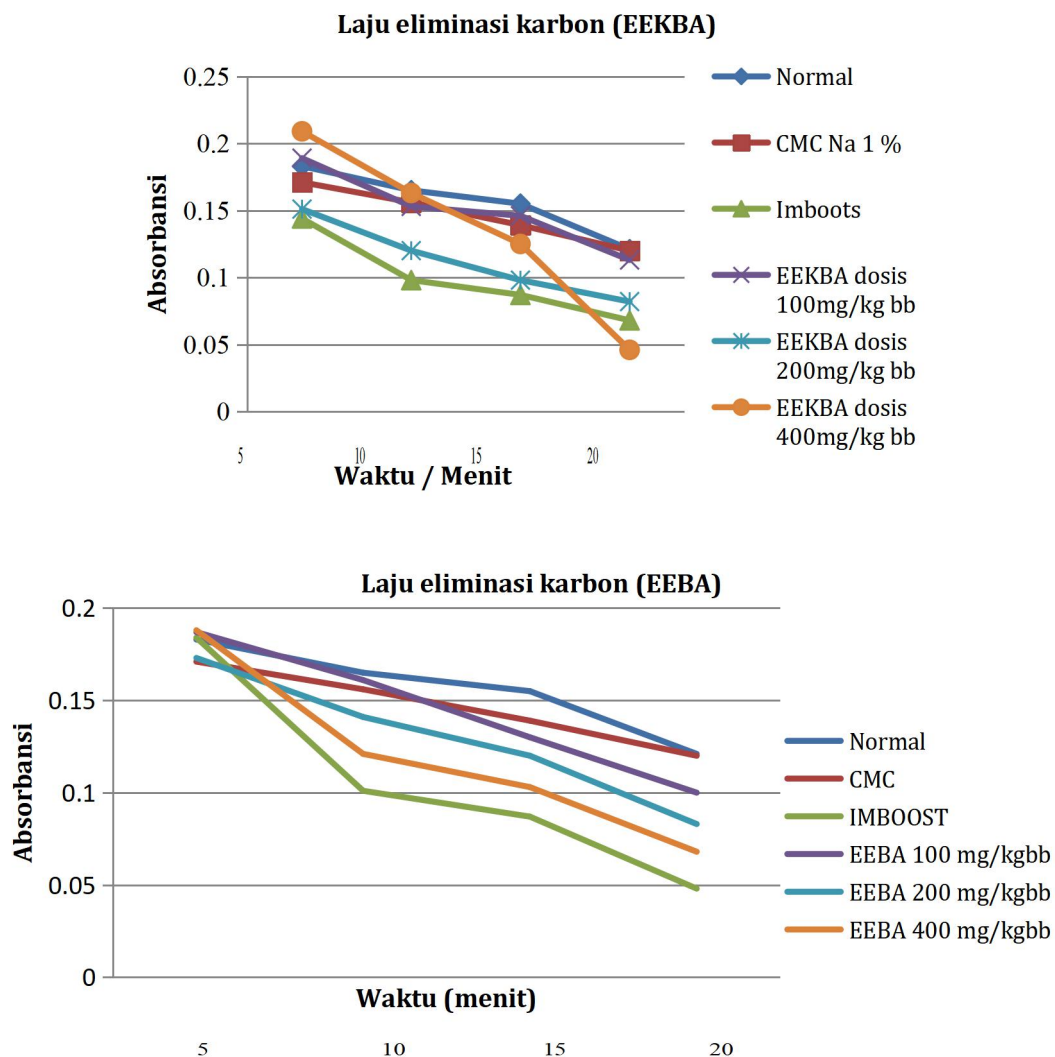
Hasil determinasi menyatakan spesies yang digunakan adalah *L. cubeba* (Lour) Pers.

Hasil penyarian serbuk simplisia kulit batang attarasa diperoleh ekstrak kental sebanyak 140 gram. Ekstraksi serbuk simplisia buah attarasa menghasilkan ekstrak kental sejumlah 150gram.

3.2 Hasil uji efek imunomodulator ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa

3.2.1 Laju eliminasi karbon

Pada penelitian ini dilakukan pengujian respon imun non spesifik dengan menggunakan metode bersihan karbon. Uji ini merupakan respon non spesifik unuk mengetahui aktivitas fagositosis sel makrofag terhadap karbon sebagai zat asing (Shukla, dkk., 2009). Karbon akan berkurang jumlahnya dalam darah seiring pertambahan waktu, karena adanya peristiwa fagositosis oleh sel-sel leukosit terutama neutrophil, monosit, dan makrofag. Laju eliminasi karbon merupakan suatu metode yang digunakan utuk mengukur aktivitas fagositosis pada mencit. Hasil laju eliminasi karbon dalam darah (EEBA dan EEFA) ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Laju eliminasi karbon

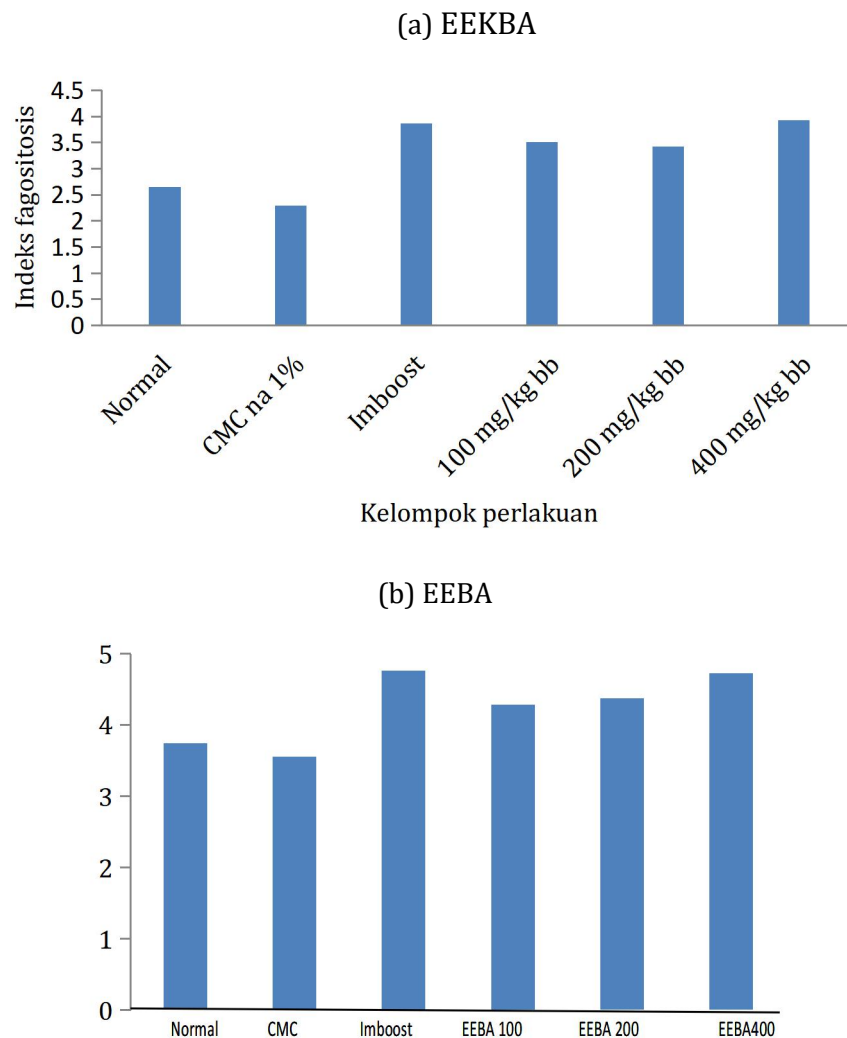
Pada Gambar 1 dapat dilihat nilai absorban panjang gelombang karbon dalam darah menurun tiap rentang waktu, berarti setiap konsentrasi ekstrak uji dapat memberikan efek imunostimulan. Penggunaan variasi konsentrasi ekstrak uji pada perlakuan ini untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak uji dengan aktivitas penurunan karbon dalam darah. Pada Gambar 1 juga dapat dilihat adanya penurunan nilai absorban pada semua kelompok sediaan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Penurunan nilai absorban terbesar terdapat pada dosis 400mg/kg bb, semakin menurunnya nilai absorban berarti konsentrasi karbon yang tinggal dalam darah menciit semakin sedikit. Hal ini memperlihatkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok sediaan ekstrak uji. Penurunan nilai absorban terbesar terdapat pada dosis 400 mg/kg bb, semakin menurunnya nilai absorban berarti konsentrasi karbon yang tinggal dalam darah menciit semakin sedikit. Hal ini memperlihatkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok sediaan ekstrak uji.

Fagositosis adalah suatu mekanisme pertahanan yang dilakukan oleh sel fagosit, sel fagosit ini terdiri dari 2 jenis, yaitu fagosit mononuklear dan polimorfonuklear. Fagosit mononuklear contohnya monosit (didarah) jika berpindah ke jaringan menjadi makrofag. Fagosit polimorfonuklear adalah granulosit yaitu netrofil, eosinofil, basophil dan sel mast (dijaringan). Adapun proses fagositosis dimana mikroorganisme/partikel asing dikenali oleh sel fagosit, maka sel fagosit akan bergerak menuju partikel tersebut akan melekat dengan reseptor pada membran sel fagosit, membran sel fagosit tersebut akan menyelubungi seluruh permukaan partikel asing dan memasukkannya ke dalam sitoplasma yang mirip seperti vakuola disebut fagosom. Selanjutnya, fagosom berikatan dengan lisosom yang berisi enzim penghancur seperti *acid hydrolase* dan peroksidase bergabung dengan fagosom membentuk fagolisosom. Sistem limfoid berfungsi untuk melindungi tubuh dari kerusakan akibat zat asing. Sel sel pada sistem ini dikenal dengan imunokompeten yaitu sel yang mampu membedakan sel tubuh dengan zat asing dan menyelenggarakan inaktivasi atau perusakan zat asing. Tugas limpa sangat penting, seperti berkontribusi pada produksi sel, fagositosis, dan pembangunan kekebalan. Peningkatan bobot hati dan limpa dapat mengindikasikan adanya peningkatan proliferasi sel-sel imun yang terdapat di dalam organ-organ tersebut (Kim, dkk., 2011).

3.2.2 Indeks fagositosis

Uji aktivitas fagositosis menggunakan metode *carbon clearance* merupakan gambaran sistem imun non spesifik pada proses fagositosis terhadap partikel asing didalam darah. Metode *carbon clearance* digunakan untuk mengukur aktivitas sel-sel fagosit untuk membunuh

oragnisme patogen yang masuk kedalam tubuh. Fagositosis banyak digunakan sebagai parameter imunologi untuk mengevaluasi fungsi kekebalan tubuh. Penilaian kemampuan atau aktivitas fagositosis dalam mengeliminasi partikel karbon dinyatakan sebagai indeks fagositosis (Shukla, *et al.*, 2009). Peningkatan indeks bersihan karbon menunjukkan perbaikan fungsi fagositik dari makrofag mononuklear dan imunitas non spesifik. Indeks fagositis setelah pemberian ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa ditunjukkan pada Gambar 2.



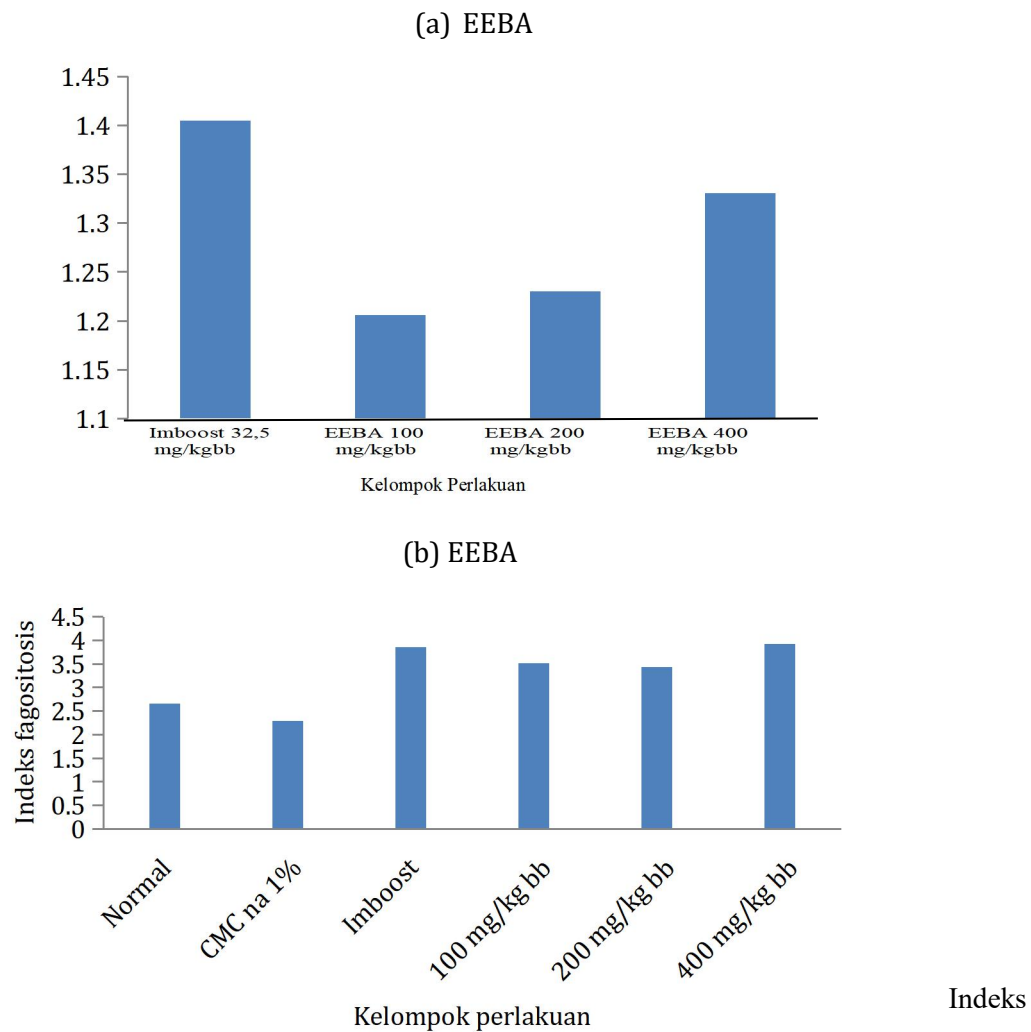
Gambar 2. Indeks fagositis

Pada Gambar 2 dapat dilihat Indeks fagositosis EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB yaitu 3,429 dan 4,289; 3,501 dan 4,375; 3,925 dan 4,732. Indeks fagositosis ekstrak dosis 100, 200, dan 400 mg/kg bb menunjukkan bahwa adanya hubungan peningkatan dosis dengan nilai indeks fagositosis, yaitu semakin besar peningkatan dosis maka nilai indeks fagositik semakin tinggi. Semakin meningkatnya indeks fagositik pada uji bersihan karbon

menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis dari makrofag dan peningkatan imunitas non spesifik. Keefektifan sel fagosit ditandai dengan peningkatan antibodi dan C3b komplemen, yang dimulai dari kecepatan pembersihan zat asing dari dalam darah (Ghaisas, et al., 2009).

3.2.3 Indeks stimulasi

Indeks stimulasi merupakan hasil perbandingan antara kelompok uji dengan kelompok kontrol. Suatu zat bersifat imunostimulan jika indeks stimulasi lebih besar dari 1 dan bersifat immunosupresan jika indeks stimulasi lebih kecil dari 1. Indeks stimulasi setelah pemberian ekstrak etanol kulit batang dan buah attarasa ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3
stimulasi

Indeks

Pada Gambar 3 dapat dilihat Indeks stimulasi EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 Indeks stimulasi EEKBA and EEBA dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB yaitu 1,00 dan 1,20; 1,02 dan 1,23; 1,13 dan 1,33. Pemberian EEKBA and EEBA pada dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB dapat meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit jantan dan terdapat perbedaan yang

signifikan dengan CMC-Na 1% dan kelompok normal ($p < 0,05$). Indeks stimulasi ekstrak dosis 100, 200, dan 400 mg/kg bb menunjukkan bahwa adanya hubungan peningkatan dosis dengan nilai indeks stimulasi, yaitu semakin besar peningkatan dosis maka nilai indeks stimulan yang didapat semakin meningkat. Imunostimulator secara tak langsung berkhasiat mereaktivasi sistem imun yang rendah dengan meningkatkan produksi molekul perantara (*messenger molecules*), yaitu sitokin, yang fungsinya adalah sebagai mediasi dan mengatur sistem imun (Sasmito, 2017). Menurut Sasmito (2017) mengenai imonomodulator bahan alami bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh hingga mampu menangkal serangan virus, bakteri atau zat asing lainnya, dengan cara meningkatkan aktivitas dari makrofag yang ditunjukkan dengan meningkatnya kemampuan fagositosis, aktivitas enzim lisosomal, serta memodulasi pelepasan *nitric oxide* oleh makrofag. Senyawa flavonoid dapat bekerja terhadap limfokin (interferon γ) yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis.

Efek suatu bahan sangat erat kaitannya dengan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan tersebut. Mekanisme imunostimulan pada buah attarasa kurang lebih sama seperti mekanisme pada tumbuhan yang mengandung senyawa ini seperti dijelaskan diatas, yaitu memiliki efek imunostimulasi pada monosit, makrofag, *natural killer cell*, dan *dendrit cell* dengan meningkatkan aktivitas IL-2, proliferasi dan aktivasi limfosit T. Proliferasi limfosit menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Kemudian sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi IFN γ yang dapat mengaktifkan makrofag (Sasmito, 2017).

4. Kesimpulan

EEKBA dan EEBA mempunyai aktivitas imunomodulator yang bekerja dengan meningkatkan sistem imun (imunostimulan).

Daftar Pustaka

- Aldi, Y., Nisya, O., dan Handayani. (2013). Uji Imunomodulator Beberapa Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Meniran Pada Mencit Jantan Dengan Metode Carbon Clearance. Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik III
- Azizah, M., Wiwik, W., Ema, R., S. (2017). Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Terhadap Mencit Putih Jantan Dengan Metode Bersihan Karbon. Jurnal. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi. Palembang
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 10-11.
- Faradilla, M., Maria, I, I. 2014. Efek Imunomodulator Polisakarida Rimpang Temu Putih (Curcuma Zeodoaria (christni) Roscoe). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia
- Ghaisas, M.M., Shaikh, S.A., dan Deshpande, A.D., 2009, Evaluation of the

- Immunomodulatory Activity of Ethanolic Extract of the Stem Bark of *Bauhinia variegata* Linn., *International Journal of Green Pharmacy*, 70- 74, Department of Pharmacology, Institute of Pharmaceutical Science and Research, India.
- Kim, K. L., Shin, K. S., Jun, W. J., Hong, B. S., Shin, D.H dan Cho, H. Y, (2011). Effects of Polysaccharides from Rhizomes of Curcuma on Macrophage Functions. *Bioscience Biotechnology*. 65 (II): Halaman 2377.
- Kurniaty, R., Dida, S., Kurniawaty, P., P., Aam, A. 2014. Kilemo (*Litsea Cubeba* L. Persoon). Bogor: Kementrian Kehutanan
- Linsentia, N., A. 2011. Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Mencit Jantan Dengan Metode Carbon Clearance Dan Neutrophil Adhesion. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Rahman, H., Yufri, A., dan Elda, M. 2016. Aktifitas Imunomodulator Dan Jumlah Sel Leukosit Dari Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Pada Mencit Jantan. STIFARM. Padang.
- Sasmito, E. (2017). *Imunomodulator Bahan Alami*. Yogyakarta: Rapha Publishing Hal 3,16
- Shukla, S., Suresh, P.V., Pradeep, M, Jinu, J., dan Archana, M. (2009). Immunomodulatory Activities of the Ethanolic Extract of *Caesalpinia bonducella* Seeds. *Journal of Ethnopharmacology*: 125, Halaman 252-256
- Tambusai, N., A. 2018. Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Afrika Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Imun Pada Mencit Jantan Dengan Metode Karbon Klirens. Universitas Sumatera Utara. Medan