UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

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

Jurnal Ilmiah Farmasi

Scientific Journal of Pharmacy

EDISI 1
JANUARI - JULI 2022
HAL. 1 – 125

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@uii.ac.id

DAFTAR ISI

Susunan Redaksi	i
Daftar Isi	ii
Pengantar Dari Dewan Editor	iv
Antibacterial activity of gempol (*Nauclea orientalis* L.) leaf ethanolic extract and its fractions against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* **Nia Kristiningrum, Reny Diastri Noviriana, Lestyo Wulandari**	1-12
A Review: The pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin-herb interactions **Ating Cicih, Widhya Aligita, Elis Susilawati**	13-25
Cytotoxic test of extract and fractions from *Blumea balsamifera* leaves using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) **Azimatur Rahmi*, Tika Afriani, Aini**	26-33
Pigment screening, phytochemical test, and cytotoxicity testing of the ethanol extract of *Holothuria atra* sea cucumber from Lemukutan island waters **Wenti Yuliana, Nora Idiawati, Dwi Imam Prayitno**	34-44
Antioxidant potential of telang flowers (*Clitoria ternatea* L.) as an inhibitor of hyperpigmentation due to ultraviolet exposure **Ni Putu Anggun Cipta Rosalita Jelantik, Erna Cahyaningsih**	45-54
Combination of ethanolic extract on total flavonoid *Centella asiatica* L. leaves and *Imperata cylindrica* L. roots with UV-Vis spectrophotometric method **Anita Puspa Widiyana, Sri Herlina, Didi Nurhadi Illian**	55-63
Effects of N-acetylcysteine administration as a preventive therapy for contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention in the elderly **Putu Rika Veryanti, Gamaliel Agripa**	64-72
The influencing factors in knowledge of DAGUSIBU drug management in a rural area **Vitarani D.A Ningrum, Mega Alfiana, Yulianto**	73-87
The Relationship of empirical antibiotic appropriateness based on ATS/IDSA with clinical outcome and LOS for sepsis pneumonia patients in ICU **Muhammad Luthfi Aziz, Ika Puspita Sari, Rizka Humardewayanti Asdie**	88-100
Antibacterial activity of the combination of *Mentha spicata* and *Allium sativum* extracts on the growth of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates **Yunan Jiwintarum, Maruni Wiwin Diarti, I Gede Angga Adnyana, Hady Anshory Tamhid**	101-109
The role of Short Chain Fatty Acids (SCFAs) in the incidence of hypertension **Agus Sulaeman, Puput Novriana, Marita Kaniawati**	110-122

PENGANTAR DARI DEWAN EDITOR

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah Ta'ala yang telah menganugerahkan kesempatan dan kekuatan, sehingga Jurnal Ilmiah Farmasi (JIF) Vol. 18 No. 1 Tahun 2022 dapat diterbitkan. Pada edisi ini dimuat sebelas artikel dengan enam artikel pada kelompok Farmasi Sains dan lima artikel dari kelompok Farmasi 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 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 sangat kami nantikan. 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, Juli 2022
Dewan Editor

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 1-12
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Antibacterial activity of gempol (*Nauclea orientalis* L.) leaf ethanolic extract and its fractions against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Nia Kristiningrum*, Reny Diastri Noviriana, Lestyo Wulandari

Fakultas Farmasi Universitas Jember
**Corresponding author*: niakristiningrum.farmasi@unej.ac.id

Abstract

Background: The leaves of gempol (*N. orientalis* L.), a family of *Rubiaceae*, have an antibacterial activity.
Objective: The aim of this research was to determine the antibacterial activity of gempol leaf ethanolic extract and its fractions.
Methods: The antibacterial activity test was carried out using the disk diffusion method. The positive and negative controls used were a disk of 10 µg gentamicin and 10% DMSO solution, respectively. The test solution concentrations for each sample, including for the ethanolic extract, hexane fraction, ethyl acetate, and residue of gempol leaves, were 0.25%, 0.5%, 1%, 2%, and 5%.
Results: The antibacterial activity of the ethanolic extract, hexane fraction, ethyl acetate fraction, and residue of gempol leaves against *E. coli* and *S. aureus* was significantly different from each other. The residue had the highest antibacterial activity followed by that of the ethyl acetate fraction, hexane fraction, and ethanolic extract.
Conclusion: The antibacterial activity of gempol leaves against *S. aureus* was greater than against *E. coli*.
Keywords: Gempol, *Nauclea orientalis*, extract, fractions, antibacterial, diffusion

Intisari

Latar Belakang: Daun gempol (*N. orientalis* L.) merupakan salah satu famili *Rubiaceae* yang telah diketahui memiliki aktivitas anthelmintik dan antibakteri.
Tujuan: penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol.
Metode: yang digunakan ialah metode difusi cakram yang menghasilkan diameter zona hambat sebagai hasil dari uji aktivitas antibakteri. Kontrol positif yang digunakan yaitu cakram gentamisin 10 µg sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10%. Larutan uji meliputi ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol dengan masing-masing konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5%.
Hasil: Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi heksan, etil asetat dan residu daun gempol terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan perbedaan yang signifikan. Residu memiliki aktivitas antibakteri tertinggi diikuti oleh fraksi etil asetat, fraksi heksana dan ekstrak etanol.
Kesimpulan: Aktivitas antibakteri pada *S. aureus* lebih besar dari pada *E. coli*.
Kata kunci : Gempol, *Nauclea orientalis,* ekstrak, fraksi, antibakteri, difusi

1. Pendahuluan

Salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang seperti Indonesia yaitu penyakit infeksi. Pada negara berkembang atau negara dengan penghasilan rendah sekitar 3,5 juta orang meninggal setiap tahunnya dikarenakan penyakit infeksi (WHO, 2014). Selain itu, menurut data WHO pada tahun 2016 menunjukkan bahwa penyakit infeksi menjadi penyebab terbesar anak usia 1 bulan sampai 4 tahun mengalami kematian yang dikarenakan penyakit infeksi pernapasan, malaria, dan diare (WHO, 2018). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri antara lain seperti *Staphylococcus aureus* (infeksi nosokomial, infeksi saluran cerna, dan infeksi kulit)*, Eschericia coli* (diare, meningitis, dan pneumonia)*, Klebsiella pneumoniae* (pneumonia), dan lainnya.

Penggunaan tanaman herbal telah dipercaya secara turun menurun sehingga pemanfaatannya sebagai alternatif pengobatan dapat dijadikan referensi untuk pengembangan obat pada masa mendatang (Sharif, 2006). Salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan yaitu gempol (*Nauclea orientalis* L.). Secara empiris kulit kayu gempol digunakan untuk pereda nyeri, gigitan hewan, luka, dan antidiare. Daun gempol juga digunakan secara empiris sebagai penghilang rasa nyeri, obat racun dari ikan, dan obat bisul dengan cara dioleskan (Cruz & Jubilo, 2014; Erdelmeier *et al.*, 1991).

Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya *N. orientalis* L. memiliki beberapa aktivitas antara lain sebagai anthelmintik (Raghavamma & Rao, 2010) dan antibakteri pada *S. aureus* (ekstrak etanol cair daun *N. orientalis* L.) (Cruz & Jubilo, 2014). Skrining fitokimia dari ekstrak daun *N. orientalis* L. memiliki kandungan antara lain alkaloid, tanin, dan glikosida saponin (Cruz & Jubilo, 2014; Takayama *et al.*, 2005). Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus.*

2. Metode

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gempol yang diambil secara acak dari pohonnya daun ke 2-3 tangkai di bawah pucuk kemudian dikeringkan dan diserbuk sehingga menjadi serbuk kering daun gempol. Daun gempol diperoleh dari Desa Ledokdawan, Kecamatan Geyer, Kabupaten Grobogan, Provinsi Jawa Tengah. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah sampel ekstrak dan fraksi, plat silika gel 60 GF_{254} (Merck), kertas saring Whatman, HCl (smartlab), NaCl, larutan Mayer, larutan Wagner, NH_4OH 28% (Merck), kloroform (Merck), metanol

(Merck), larutan Dragendorff, asam asetat anhidrida (UNIVAR), H_2SO_4 p.a (Smartlab), etanol (Merck), anisaldehida asam sulfat, aquades, $FeCl_3$ (Sigma Aldrich) dan sitrat borat. Bahan untuk uji antibakteri adalah NaCl fisiologis, akuades steril, kertas saring, DMSO (Dimetil Sulfoksida) 10%, bakteri uji yang digunakan adalah *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538. Media bakteri untuk peremajaan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA) (Merck) sedangkan media bakteri untuk uji metode difusi adalah *Mueller Hinton* (MH). Kontrol positif antibakteri menggunakan gentamisin cakram dengan konsentrasi 10 µg. Bahan kimia lain yang digunakan adalah etanol 96% (Merck), aquades, heksana p.a (Merck), etil asetat p.a, (Merck), dan metanol p.a (Merck).

2.2. Prosedur penelitian

2.2.1 Pengumpulan sampel dan determinasi tanaman

Sampel yang digunakan adalah daun gempol (*N. orientalis* L.) yang diambil secara acak dari pohonnya serta dipilih yang tidak muda dan tidak tua yaitu diambil daun ke 2-3 tangkai dibawah pucuk seperti pada Gambar 1. Daun gempol muda berwarna kemerahan dan daun tuanya berwarna hijau tua. Selanjutnya, determinasi dilakukan di Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember, Jawa Timur.

Gambar 1. Bagian daun gempol (Sumber: Koleksi pribadi)

2.2.2 Pembuatan simplisia

Daun gempol (*N. orientalis* L.) yang diambil, dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran. Daun gempol dikeringkan dengan cara diangin-anginkan yang diletakkan di wadah nampan dan tempat yang terbuka serta tidak terkena sinar matahari langsung. Daun gempol tersebut disimpan selama lima hari hingga daun menjadi kering ditandai dengan hancur saat diremas. Pembuatan serbuk daun gempol dilakukan dengan cara diblender dan diayak, hasil ayakan dipindahkan pada wadah yang tidak lembab.

2.2.3 Ekstraksi

Serbuk simplisia daun gempol sebanyak 200 gram dimaserasi menggunakan bantuan ultrasonik dengan 1,5 L etanol 96% selama 3 jam (terdapat jeda tiap 1 jam agar tidak terjadi panas yang tinggi) dengan perbandingan pelarut dan serbuk 1:7,5. Selanjutnya dilakukan remaserasi dengan cara dan pelarut yang sama. Ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dipekatkan dengan oven suhu 40-45°C. Ekstrak kental kemudian ditimbang untuk perhitungan rendemen.

2.2.4 Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan metode partisi cair-cair secara bertingkat menggunakan pelarut heksana dan etil asetat. Ekstrak etanol daun gempol sebanyak 5 gram dilarutkan dalam 5 mL metanol dan 45 mL akuades. Perbandingan pelarut fraksinasi dengan larutan ekstrak etanol kental adalah 1:1, sehingga semua pelarut menggunakan volume 50 mL. Hasil fraksinasi kemudian ditimbang untuk perhitungan rendemen.

2.2.5 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi daun gempol. Skrining fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji alkaloid, glikosida saponin, polifenol/tanin, dan flavonoid. Uji skrining fitokimia dilakukan dengan 2 metode yaitu uji tabung dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

2.2.6 Tahapan uji aktivitas antibakteri

1) Pembuatan media

Media NA dibuat dengan cara menimbang serbuk NA sebanyak 23 gram dilarutkan dalam 1 L akuades lalu dipanaskan sampai mendidih dan tepat larut sedangkan media MHA dibuat dengan menimbang serbuk MHA sebanyak 38 gram dilarutkan dalam 1 L akuades dan dipanaskan sampai mendidih hingga semuanya larut. Selanjutnya media NA dan MHA disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

2) Peremajaan biakan bakteri

Biakan bakteri murni diremajakan pada media NA dalam tabung reaksi dengan cara menggoreskan pada media NA miring kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C.

3) Pembuatan larutan uji

Larutan uji ekstrak dibuat dengan lima seri konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5% sedangkan larutan uji fraksi dibuat juga dengan 5 seri konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5% dengan menggunakan pelarut DMSO 10% untuk masing-masing konsentrasi. Larutan uji dibuat dengan cara menimbang sebanyak 500 mg dalam 1 mL. Kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi ekstrak dan fraksi sebanyak 1 mL untuk tiap masing-masing konsentrasi.

4) Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri yang diremajakan pada umur 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan dalam 5 mL NaCl fisiologis. Suspensi bakteri divortex dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm hingga absorbansinya sama dengan standar Mc Farland 0,5 (Wiegand *et al.*, 2008).

5) Uji aktivitas antibakteri

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi cakram. Stok bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 100 µL suspensi bakteri dituangkan pada permukaan media MHA di cawan petri dan diratakan menggunakan *spreader* kemudian plat kultur didiamkan hingga 15 menit. Setelah itu, diletakkan cakram steril yang telah dipreparasi sebelumnya dengan ditambahkan larutan uji sebanyak 10 µL masing-masing konsentrasi. Kontrol positif dan kontrol negatif yang digunakan berturut-turut adalah antibiotik gentamisin 10 µg dan larutan DMSO 10%. Masing-masing cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam menggunakan inkubator. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan data dicatat dalam satuan milimeter. Data diameter zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol kemudian dilakukan analisis data secara statistik.

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Ekstraksi

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian selanjutnya ditimbang dan dihitung persen rendemennya. Hasil ekstrak etanol didapatkan sebanyak 29,98 gram dan persen rendemen sebesar 14,99%. Pembuatan ekstrak daun gempol menggunakan metode maserasi dengan bantuan ultrasonik dan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dengan bantuan ultrasonik dipilih karena dipilih karena mampu meningkat rendemen dan mengurangi waktu ekstraksi suatu sampel (Clark & Macquarrie, 2002). Selain itu ultrasonik tidak menggunakan proses pemanasan sehingga metabolit zat aktif didalam ekstrak yang tidak tahan panas tidak ikut terdegradasi akibat pemanasan. Pelarut etanol dipilih karena pelarut *universal* bersifat polar dan mudah menguap serta

mampu mengekstrak senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya (Poeloengan *et al.*, 2007).

3.2. Fraksinasi

Hasil fraksinasi yang diperoleh selanjutnya ditimbang dan dihitung persen rendemennya. Rendemen fraksi merupakan persentase perbandingan fraksi kental yang diperoleh dengan berat ekstrak kental yang difraksinasi. Perhitungan persen rendemen fraksi ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil fraksinasi sampel daun gempol (*N. orientalis* L.)

Sampel	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%) dalam ekstrak	Rendemen (%) dalam simplisia
Fraksi heksana	5,00	0,24	4,80	0,72
Fraksi etil asetat	5,00	0,56	11,20	1,68
Residu	5,00	2,32	46,40	6,96

Berdasarkan hasil rendemen yang diperoleh, residu memiliki rendemen tertinggi dilanjutkan fraksi etil asetat dan fraksi heksana. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang paling banyak dalam residu daun gempol adalah senyawa polar. Adanya perbedaan persen rendemen dari setiap fraksi dikarenakan adanya perbedaan distribusi komponen senyawa yang dapat larut dalam pelarut tertentu (Dai & Mumper, 2010).

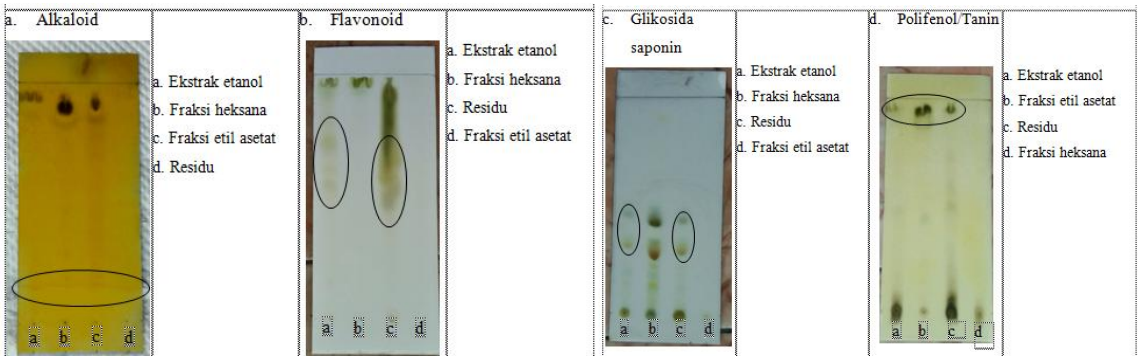
3.3. Skrining fitokimia

Hasil uji tabung dan KLT di dalam ekstrak etanol daun gempol terdapat senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Pada uji tabung dan KLT di dalam fraksi heksana terdapat senyawa alkaloid. Uji tabung dan KLT di dalam fraksi etil asetat terdapat senyawa alkaloid dan tanin. Uji tabung dan KLT di dalam residu terdapat senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.)

Kandungan kimia	Ekstrak etanol		Fraksi heksana		Fraksi etil asetat		Residu	
	Uji tabung	KLT	Uji tabung	KLT	Uji tabung	KLT	Uji tabung	KLT
Alkaloid	+	++	+	+	+	+	+	+
Glikosida saponin	+	+	-	-	-	-	+	+
Polifenol/ Tanin	+	+	-	-	+	++	+	+
Flavonoid	+	+	-	-	-	-	+	++

Keterangan:
Tanda (-) : tidak terdeteksi
Tanda (+) : terdeteksi
Tanda (++) : terdeteksi, intensitas lebih besar



Gambar 2. Hasil skrining KLT ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu daun gempol (*N. orientalis* L.)

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gempol mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang dapat memiliki aktivitas antibakteri. Alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu sel bakteri pada komponen penyusun peptidoglikan sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Karou *et al.*, 2006). Glikosida saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri serta saponin memiliki zat aktif yang permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Madduluri & Rao, 2013). Tanin sebagai antibakteri yaitu kemampuannya menghambat sintesis khitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada mikroba dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Sudira *et al.*, 2011). Flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Hendra *et al.*, 2011).

3.4. Uji aktivitas antibakteri

Perbedaan hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol terhadap *E. coli* dan *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4. Hasil yang ditunjukkan oleh kontrol positif yaitu gentamisin menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sedangkan kontrol negatif tidak memberikan hambatan pada bakteri uji, hal ini menunjukkan bahwa metode uji aktivitas antibakteri yang dilakukan sudah benar. Berdasarkan Tabel 3 dan Tabel 4, ekstrak etanol belum menunjukkan aktivitas penghambatan pada konsentrasi 0,25%, sedangkan untuk fraksi heksana, etil aseatat, dan residu telah menunjukkan aktivitas penghambatan bakteri *E. coli* pada konsentrasi 0,25%. Pada keempat sampel yang diujikan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus,* residu memberikan hambatan yang paling besar dibandingkan dengan sampel lainnya. Hal ini kemungkinan karena kandungan senyawa metabolit

sekunder yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri banyak terdapat pada residu seperti golongan alkaloid, glikosida, polifenol dan flavonoid. Aktivitas antibakteri dari terbesar hingga terkecil jika diurutkan yaitu residu, fraksi etil asetat, fraksi heksana, dan ekstrak.

Tabel 3. Hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli*

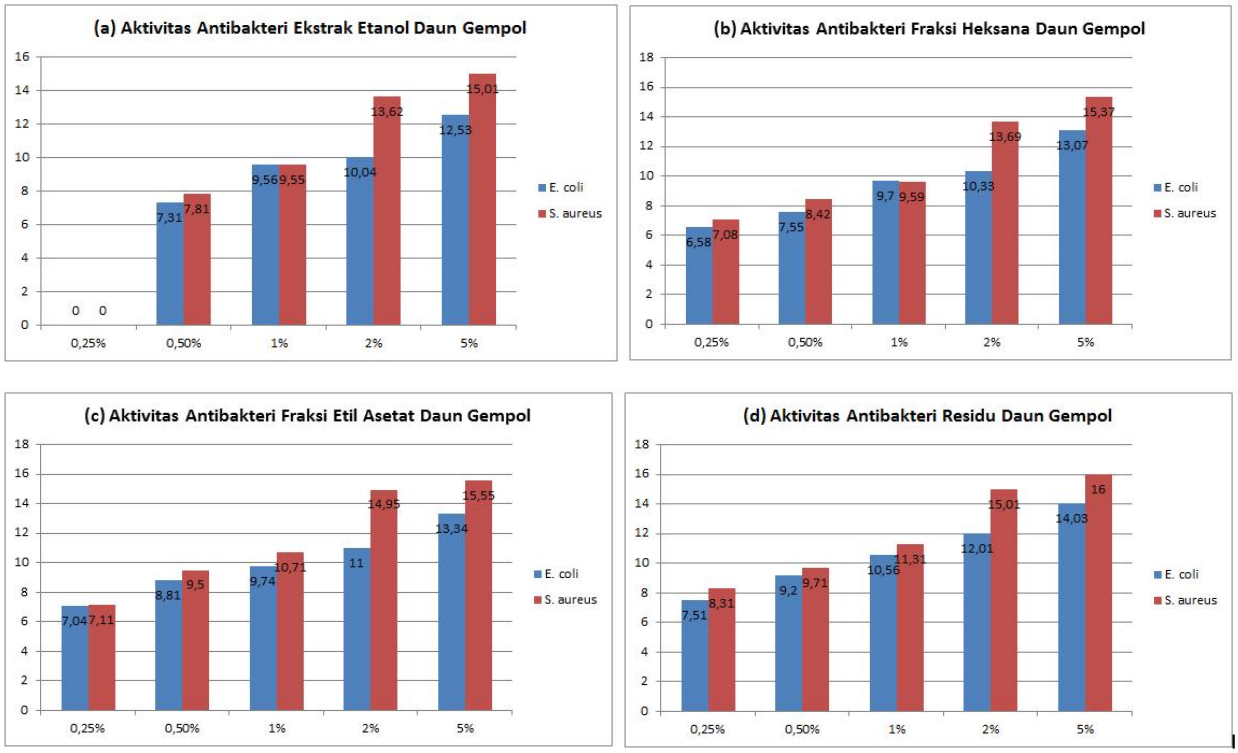
Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat ± SD (mm) (n=3)			
	Ekstrak etanol	Fraksi heksana	Fraksi etil asetat	Residu
0,25	0,00 ± 0,00	6,58 ± 0,03	7,04 ± 0,05	7,51 ± 0,01
0,5	7,31 ± 0,02	7,55 ± 0,04	8,81 ± 0,01	9,20 ± 0,01
1	9,56 ± 0,05	9,70 ± 0,01	9,74 ± 0,04	10,56 ± 0,01
2	10,04 ± 0,03	10,33 ± 0,77	11,00 ± 0,00	12,01 ± 0,02
5	12,53 ± 0,03	13,07 ± 0,01	13,34 ± 0,01	14,03 ± 0,03
Kontrol +	28,55 ± 0,04	29,11 ± 0,01	29,62 ± 0,04	30,00 ± 0,00
Kontrol -	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Tabel 4. Hasil pengamatan diameter zona hambat ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *S. aureus*

Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat ± SD (mm) (n=3)			
	Ekstrak etanol	Fraksi heksana	Fraksi etil asetat	Residu
0,25	0,00 ± 0,00	7,08 ± 0,04	7,11 ± 0,01	8,31 ± 0,01
0,5	7,81 ± 0,01	8,42 ± 0,03	9,50 ± 0,01	9,71 ± 0,01
1	9,55 ± 0,07	9,59 ± 0,04	10,71 ± 0,01	11,31 ± 0,01
2	13,62 ± 0,03	13,69 ± 0,07	14,95 ± 0,01	15,01 ± 0,02
5	15,01 ± 0,01	15,37 ± 0,06	15,55 ± 0,00	16,00 ± 0,00
Kontrol +	29,96 ± 0,10	30,31 ± 0,02	30,03 ± 0,02	29,90 ± 0,09
Kontrol -	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Pengujian antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol menggunakan metode difusi cakram. Metode ini dipilih karena dapat digunakan untuk melakukan skrining awal untuk mengetahui aktivitas antibakteri suatu larutan uji, serta merupakan metode yang sederhana dibandingkan metode uji yang lain seperti metode difusi sumuran (Balouiri *et al.*, 2016). Gentamisin sebagai kontrol positif digunakan untuk mengetahui kesesuaian metode yang digunakan pada penelitian ini. Gentamisin dipilih karena memiliki spektrum yang luas baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif (Katzung *et al.*, 2015). Pelarut DMSO 10% sebagai sebagai kontrol negatif digunakan untuk mengetahui pengaruh pelarut ekstrak terhadap penghambatan bakteri dan merupakan pelarut organik yang tidak bersifat bakterisidal. Pelarut ini dapat digunakan untuk pelarut ekstrak maupun fraksi uji karena mampu melarutkan senyawa polar maupun non polar. Pada uji antibakteri gentamisin menunjukkan aktivitas antibakteri dan DMSO 10% tidak memberikan aktivitas antibakteri.

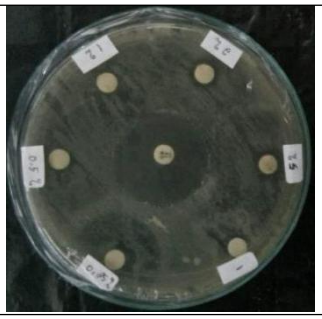
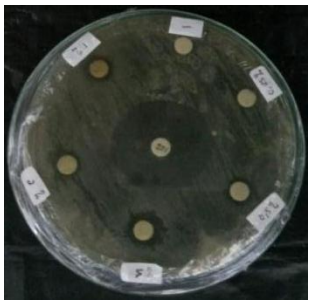
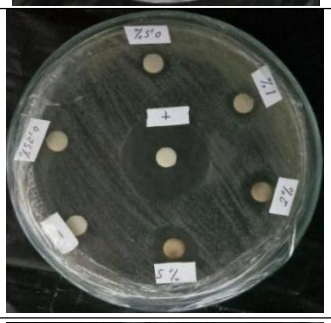
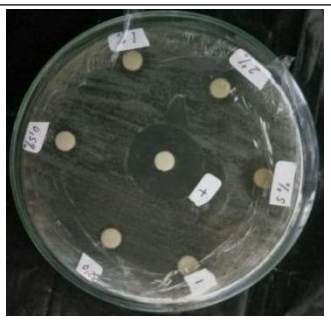
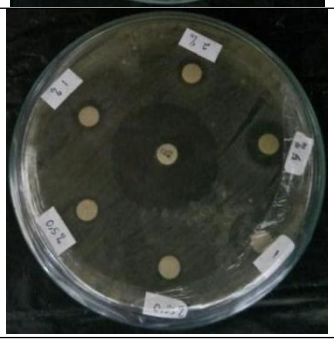
Ekstrak etanol dan fraksi daun gempol memiliki aktivitas antibakteri yang hampir sama terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus.* Aktivitas antibakteri tersebut dapat dilihat pada Gambar 3 dan dokumentasi pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3. Grafik aktivitas antibakteri daun gempol (*N. orientalis* L.)
Keterangan: x= konsentrasi ekstrak atau fraksi (%), y= diamater zona hambat (mm)

Grafik pada Gambar 3 menunjukkan bahwa residu memiliki aktivitas penghambatan yang tinggi pada kedua bakteri uji dibandingkan ekstrak etanol, fraksi heksana, dan fraksi etil asetat daun gempol dimungkinkan banyak senyawa yang tertinggal didalamnya dibuktikan dengan skrining fitokimia pada residu mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosida saponin, tanin dan flavonoid. Diantara kedua bakteri tersebut, ekstrak etanol dan fraksi daun gempol menunjukkan aktivitas penghambatan yang dominan lebih tinggi terhadap *S. aureus* dibandingkan aktivitas penghambatan terhadap *E. coli*. Hal tersebut dapat dilihat dari nilai diameter hambat yang dihasilkan dimana diameter hambat terhadap *S. aureus* relatif lebih besar dibandingkan diameter hambat terhadap *E. coli*. Aktivitas yang lebih tinggi terhadap *S. aureus* daripada *E. coli* ini sesuai dengan sifat dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dibandingkan bakteri gram positif. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah, dan lapisan dalam, sedangkan bakteri gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Struktur dinding sel yang lebih

kompleks pada bakteri gram negatif menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Biswas *et al.*, 2013). Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol menunjukkan perbedaan secara siginifikan.

No.	Sampel	Zona hambat terhadap *E. coli*	Zona hambat terhadap *S. aureus*
1.	Ekstrak etanol		
2.	Fraksi heksana		
3.	Fraksi etil asetat		
4.	Residu		

Gambar 4. Hasil pengamatan zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun gempol (*N. orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu nilai aktivitas antibakteri zona hambat dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah residu, fraksi etil asetat, fraksi heksana, dan ekstrak. Selain itu, nilai aktivitas antibakteri ektrak, fraksi maupun residu daun gempol terhadap bakteri *S. aureus* lebih baik dibandingkan terhadap bakteri *E. coli.*

Daftar pustaka

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *J Pharm Anal, 6*(2), 71-79. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005

Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D., & Yadav, A. (2013). Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (Psidium guajava L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Int J Microbiol, 2013*, 746165. doi:10.1155/2013/746165

Clark, J., & Macquarrie, D. J. (2002). *Handbook of Green Chemistry and Technology* (T. J. Mason & P. Cintas ed.). London: Blackwell Science Ltd.

Cruz, J. P., & Jubilo, R. M. (2014). Evaluation of the Anti – Staphylococcal Activity of Nauclea Orientalis Linn. *European Scientific Journal, 10*(27). doi:https://doi.org/10.19044/esj.2014.v10n27p%p

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules, 15*(10), 7313-7352. Retrieved from https://www.mdpi.com/1420-3049/15/10/7313

Erdelmeier, C. A., Wright, A. D., Orjala, J., Baumgartner, B., Rali, T., & Sticher, O. (1991). New Indole Alkaloid Glycosides from Nauclea orientalis. *Planta Med, 57*(2), 149-152. doi:10.1055/s-2006-960052

Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M. Y., & Oskoueian, E. (2011). Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl Fruit. *Int J Mol Sci, 12*(6), 3422-3431. doi:10.3390/ijms12063422

Karou, S. D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpore, J., Colizzi, V., & Traore, A. (2006). Antibacterial Activity of Alkaloids from Sida acuta. *african journal of biotechnology, 5*, 195-200. doi:10.4314/ajb.v4i12.71463

Katzung, B. G., Masters, S. B., & Anthony, J. T. (2015). *Basic and Clinical Pharmacology* (13 ed.). San Fransisco: Mc Graw Hill.

Madduluri, S., & Rao, K. B. (2013). *In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts Against Five Bacteria Pathogens of Humans*.

Poeloengan, M., Andriani, A., M.N, S, Komala, I., & Hasnita, M. (2007). *Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (Largerstoremia speciosa Pers.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Secara In Vitro* Paper presented at the Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Bogor. http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/83469

Raghavamma, D. S. T. V., & Rao, N. (2010). In Vitro Evaluation of Anthelmintic Activity of Nauclea orientalis Leaves. *Indian journal of pharmaceutical sciences, 72*, 520-521. doi:10.4103/0250-474X.73932

Sharif, M. (2006). *Status and Utilization of Medicinal Plants in Rangamati of Bangladesh*.

Sudira, I. W., Merdana, I., & Wibawa, I. (2011). Uji daya hambat ekstrak daun kedondong (Lannea Grandis Engl) terhadap pertumbuhan bakteri Erwinia carotovora.

Takayama, H., Kitajima, M., & Kogure, N. (2005). Chemistry of Indole Alkaloids Related to the Corynanthe-Type from Uncaria, Nauclea and Mitragyna Plants. *Current Organic Chemistry, 9*, 1445-1464. doi:10.2174/138527205774370559

WHO. (2014). World Health Statistics 2014. Retrieved from https://www.who.int/news/item/15-05-2014-world-health-statistics-2014

WHO. (2018). World Health Statistics 2018: Monitoring Health For The SDGS, Sustainable Development Goals. Retrieved from https://apps.who.int/iris/handle/10665/272596

Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and Broth Dilution Methods to Determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances. *Nat Protoc, 3*(2), 163-175. doi:10.1038/nprot.2007.521

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 13- 25
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

A Review: The pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin-herb interactions

Review : Interaksi farmakokinetik dan farmakodinamik metformin-herbal

Ating Cicih, Widhya Aligita*, Elis Susilawati

Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Jawa Barat
**Corresponding author*: widhya.aligita@bku.ac.id

Abstract

Background: Diabetes mellitus is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia. Metformin is the first-line therapy for type-2 diabetes mellitus. The combination of synthetic drugs with herbs was reported to be superior and popular compared to monotherapy. However, drug-herb interactions can have both beneficial and detrimental effects.
Objective: This review was aimed to identify the interactions that occur between the antidiabetic drug metformin and herbs**.**
Methods: Literature search was done through ScienceDirect, ResearchGate, Pharmaceutics, and Genes by MDPI databases using the keywords metformin, antidiabetic, herb-drug, interaction, pharmacology, combination, pharmacokinetics, and pharmacodynamics.
Results: The combination of metformin and such herbs as Korean ginseng (*Panax ginseng*), *Lonicera japonica*, *Houttuynia cordata*, mulberry (*Morus alba*), banana (*Musa sapientum*), *Momordica charantia*, coconut (*Cocos nucifera*), and *Scutellaria baicalensis* showed pharmacokinetic interactions in the form of increasing plasma metformin uptake mediated by MATE1 inhibition and increased OCT1, as well as hOCT2 inhibition which caused decreased metformin uptake in the kidneys. The pharmacodynamic interactions showed a direct effect, both additive and synergistic effects, in reducing blood glucose levels.
Conclusion: Consuming metformin with herbs shows the potential for drug interactions in terms of both pharmacokinetics and pharmacodynamics.
Keywords: pharmacokinetic, pharmacodynamic, herb-drug, metformin

Intisari

Latar belakang: Diabetes melitus yaitu gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia. Metformin merupakan lini pertama pengobatan DM tipe 2. Kombinasi obat sintetis dengan herbal telah dilaporkan menjadi lebih unggul dan populer dibandingkan pengobatan monoterapi saja. Penggunaan obat sintetis dengan herbal dapat memicu interaksi obat yang dapat memberikan efek menguntungkan ataupun merugikan.
Tujuan: *Review* ini bertujuan untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara obat antidiabetes metformin dengan herbal.
Metode: Penelusuran pustaka melalui database *Sciencedirect, Researchgate, Pharmaceutics,* dan *Genes MDPI* dengan penggunaan kata kunci seperti metformin, *antidiabetic*, *herb-drug, interaction, pharmacology, combination, pharmacokinetic,* dan *pharmacodynamic.*
Hasil: Kombinasi obat metformin dengan herbal seperti ginseng Korea (*Panax ginseng*), kamperfuli (*Lonicera japonica*), amis-amisan (*Houttuynia cordata*), murbei (*Morus alba*), pisang (*Musa sapientum*), pare *(Momordica charantia),* kelapa *(Cocos nucifera)*, dan kopiah Cina *(Scutellaria baicalensis)* menunjukkan interaksi farmakokinetik berupa peningkatan penyerapan metformin dalam plasma yang diduga dimediasi oleh penghambatan MATE1 dan peningkatan OCT1, serta penghambatan hOCT2 yang menyebabkan penurunan penyerapan metformin di ginjal. Adapun interaksi farmakodinamiknya menunjukkan efek yang searah baik aditif maupun sinergis dalam penurunan kadar glukosa darah.

Kesimpulan: Konsumsi metformin dengan herbal menunjukkan adanya potensi interaksi obat baik secara farmakokinetik ataupun farmakodinamik.
Kata kunci: farmakokinetik, farmakodinamik, herbal-obat, metformin

1. Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) adalah gangguan metabolisme kronis dengan karakteristik hiperglikemia yang dapat mengakibatkan gangguan mikrovaskular jangka panjang, makrovaskular, dan komplikasi neuropati (Sease & Shealy, 2016; Trujillo & Haines, 2020). Sering buang air kecil, penurunan berat badan, rasa ingin makan terus menerus, dan peningkatan rasa haus merupakan gejala umum DM (Ramachandran, 2014). Berdasarkan estimasi dari 10 negara teratas dengan penderita DM pada orang dewasa (20-79 tahun), Indonesia berada di urutan ketujuh pada tahun 2019 (10,7 juta) dan 2030 (13,7 juta) serta berada di urutan ke delapan pada tahun 2045 (16,6 juta) (IDF, 2019). Menurut WHO, estimasi penderita DM sekitar 21,3 juta di tahun 2030 (Kemenkes RI, 2019).

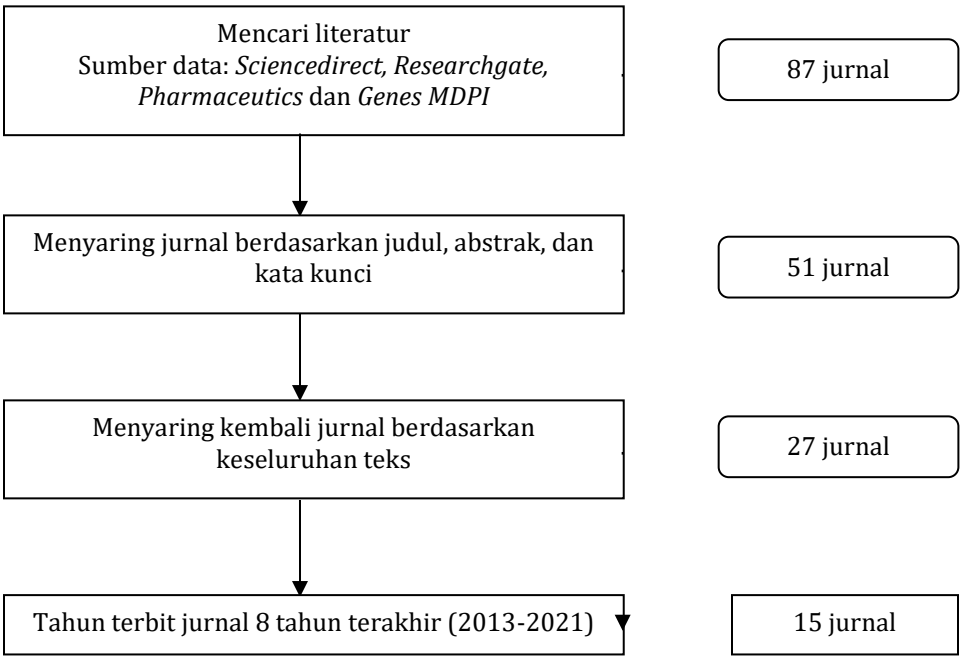
Jenis DM tipe 2 menyumbang sekitar 90% dari semua kejadian DM yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah, serta defisiensi dan resistensi insulin (Cortez-Navarrete *et al.*, 2018; Nam *et al.*, 2018). Metformin merupakan obat lini pertama yang digunakan untuk terapi pengobatan (Kennedy & Masharani, 2018). Namun, memiliki efek samping utama yakni dapat menyebabkan dispepsia, diare, asidosis laktat (Perkeni, 2019) serta gangguan gastrointestinal (Dujic *et al.*, 2016).

Penggunaan tanaman herbal biasanya dianggap lebih alami dan aman tanpa adanya efek samping. Tanaman herbal telah banyak digunakan di seluruh dunia untuk mengobati penyakit, yang beberapa diantaranya telah menunjukkan efek antidiabetes yang signifikan (Abouzekry *et al.*, 2021). Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa kombinasi obat sintetik dengan obat herbal menjadi populer serta lebih unggul daripada pendekatan dengan monoterapi saja (Kaur *et al.*, 2020; Yoo *et al.*, 2018). Penggunaan obat yang yang diberikan bersama obat-obat lain, herbal, alkohol ataupun asap tembakau dapat memberikan suatu efek atau disebut interaksi obat (Rajkapoor & Pakkir Maideen, 2018). Interaksi ini dapat memberikan efek merugikan tetapi juga dapat menguntungkan (Gupta *et al.*, 2017). *Review* ini bertujuan untuk menyajikan potensi interaksi farmakologi obat dari metformin dengan tanaman herbal.

2. Metode

Penelusuran sumber pustaka berupa literatur jurnal ilmiah nasional dan internasional berbahasa inggris yang diakses dari *Sciencedirect, Researchgate, Pharmaceutics*, dan *Genes MDPI*.

Pencarian dilakukan dengan kata kunci metformin, *antidiabetic, herb-drug, interaction, pharmacology, combination, pharmacokinetic,* dan *pharmacodynamic*. Setelah melakukan pengumpulan literatur dilakukan skrining berdasarkan kriteria inklusi. Skrining jurnal ilmiah berdasarkan judul, abstrak, kata kunci dan isi keseluruhan teks. Kriteria inklusi jurnal ilmiah berdasarkan tahun terbitan dari tahun 2013-2021 yang membahas uji praklinis maupun uji klinis interaksi farmakokinetik serta farmakodinamik obat antidiabetes metformin dengan tanaman herbal. Kriteria eksklusi yaitu artikel termasuk *review article*. Hasil pengumpulan awal diperoleh 87 jurnal dan setelah dilakukan skrining diperoleh hasil akhir jurnal ilmiah yang relevan dengan penelitian sebanyak 15 jurnal. Jurnal ilmiah yang relevan sebanyak 15 tersebut didapatkan dari *Sciencedirect* (n=5), *Researchgate* (n=6), *Pharmaceutics* (n=3), dan *Genes MDPI* (n=1).



Gambar 1. Skema metode penelitian

3. Hasil dan pembahasan

Interaksi obat-herbal merupakan efek farmakologis atau respon klinis terhadap pemberian bersamaan produk herbal dan obat-obatan modern (Yoo *et al.*, 2018). Interaksi tersebut dapat mempengaruhi kemanjuran dan keamanan klinis melalui interaksi aditif sinergis atau antagonis antara komponen herbal dan molekul obat (Gupta *et al.*, 2017). Tujuan pengobatan tanaman herbal ini menciptakan persepsi bahwa obat berbahan alami dan bebas dari berbagai racun. Namun

nyatanya telah terbukti bahwa dalam penggunaannya dapat menghasilkan efek samping yang signifikan, terutama karena interaksi obat resep-herbal (Cusinato *et al.*, 2019).

Interaksi farmakokinetik merupakan interaksi obat yang mempengaruhi proses penyerapan, distribusi (atau pengikatan protein), metabolisme, atau ekskresi. Memahami interaksi farmakokinetik dapat digunakan untuk mencegah interaksi yang berpotensi serius (Mouly *et al.*, 2017). Hubungan yang menggambarkan antara konsentrasi obat di tempat kerjanya, biasanya reseptor, dan efek obat yang sesuai disebut interaksi farmakodinamik (van den Berg *et al.*, 2017). Interaksi negatif atau merugikan cenderung mendapat perhatian lebih karena pertimbangan keamanan, sedangkan efek aditif/sinergis mungkin menghasilkan peningkatan efek farmakologis yang diinginkan (Gupta *et al.*, 2017). Interaksi obat-herbal yang sinergis dapat digunakan untuk menurunkan dosis obat dengan efek terapeutik yang sama dibandingkan saat dikonsumsi sendiri (Elango *et al.*, 2015).

Metformin merupakan agen penurun glukosa dan dengan mekanisme utamanya melalui penghambatan glukoneogenesis hati (Xiao *et al.*, 2017) dengan aktivasi adenosin monofosfat kinase (AMPK), yang menekan produksi glukosa yang distimulasi glukagon, dan meningkatkan pengambilan glukosa melalui glukosa transporter tipe 4 (GLUT4) di otot dan sel hati (Nam *et al.*, 2018)**.** Berikut beberapa interaksi metformin dengan herbal berdasarkan penelusuran pustaka (Tabel 1).

3.1 Ginseng merah Korea (Panax ginseng Meyer)

Ginseng merah Korea (*Panax ginseng* Meyer) dan ginseng Amerika (*Panax quinquefolius L.*) merupakan dua dari spesies ginseng yang paling umum. Tanaman ini mengandung profil khas glikosida tipe *dammarane* yang disebut ginsenosides sebagai konstituen aktif farmakologis utamanya (Jovanovski *et al.*, 2021). Ginsenosides Rb2 dilaporkan meningkatkan sensitivitas insulin (Dai *et al.*, 2018), sedangkan ginsenosides Rb5 menunjukkan potensi pencegahan glukoneogenesis hati diabetes (Xiao *et al.*, 2017) .

Pemberian bersama metformin dan ekstrak ginseng merah pada uji praklinik dengan tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin menunjukkan efek aditif terhadap kadar glukosa darah puasa yang dapat dikaitkan dengan mekanisme aksi yang serupa (Nam *et al.*, 2018). Saat ini, sejumlah bukti menunjukkan bahwa ginsenosides menunjukkan efek hipoglikemik yang signifikan pada model hewan diabetes yang diinduksi dan model sel *in vitro* (Fan *et al.*, 2020). Penekanan glukoneogenesis hati oleh ginsenoside Rb3 sebagian melalui stimulasi aktivitas AMPK (Meng *et al.*, 2017). Efek metabolik insulin yang diaktifkan pada jalur pensinyalan *phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate* (PI3K) dapat memediasi peningkatan pengambilan glukosa melalui GLUT4 (Choi *et al.*, 2018) yang

akan meningkatkan penyerapan glukosa adiposit atau sel otot rangka, sehingga dengan pengobatan ekstrak ginseng dapat menurunkan glukosa darah atau kadar HbA1c (Nam *et al.*, 2018).

Hasil penelitian uji praklinik lain mengenai interaksi farmakokinetik kombinasi ini menunjukkan bahwa ekstrak ginseng merah cukup meningkatkan *ileal* OCT1 tetapi menurunkan ekspresi hati tanpa menghambat aktivitas transportasi *in vitro*. Di bagian bawah usus kecil terjadi peningkatan penyerapan metformin, akibatnya konsentrasi plasma *in vivo* metformin menjadi meningkat, tetapi menghambat eliminasi metformin pada tikus (Jin *et al.*, 2019). Banyak penelitian yang telah menunjukkan bahwa metformin merupakan substrat dari berbagai polispesifik pengangkut kation organik termasuk OCT1, OCT2, OCT3, MATE1, MATE2, OCTN1, dan PMAT. OCT1 merupakan salah satu transporter yang terlibat dalam proses distribusi obat metformin di hati dan usus (Jin *et al.*, 2019; Liang *et al.*, 2015).

Tabel 1. Interaksi farmakokinetik dan farmakodinamik metformin-herbal

No	Tanaman herbal	Jenis interaksi	Eksperimen		Observasi	Referensi
1	Ginseng Korea (*Panax ginseng*)	Farmakokinetik	Tikus jantan Sprague-Dawley	Dosis berulang ekstrak 1 minggu (1,5 g/kg/hari), metformin (50 mg/kg)	OCT1 usus ↑, konsentrasi metformin dalam plasma ↑	(Jin *et al.*, 2019)
		Farmakodinamik	Tikus diabetes diinduksi streptozotosin	Metformin (50 mg/kg dan ekstrak (2 g/kg) selama 5 minggu	Efek aditif terhadap ↓ kadar glukosa darah puasa	(Nam *et al.*, 2018)
2	Kamperfuli *(Lonicera japonica* Thunb)	Farmakokinetik	Tikus jantan Sprague-Dawley	Metformin (100 mg/kg) dan ekstrak (200 mg/kg), 28 hari periode pengobatan	Penghambatan MATE1, konsentrasi metformin di hati ↑, aktivitas toleransi glukosa ↑	(Han *et al.*, 2019)
3	Amis-amisan (*Houttuynia cordata*)	Farmakokinetik	Tikus jantan Sprague-Dawley	Metformin (100 mg/kg) dan ekstrak (200 mg/kg), 28 hari periode pengobatan	OCT1 hati ↑ sehingga penyerapan metformin ↑, glukosa darah ↓ tanpa hipoglikemia	(You *et al.*, 2018)
		Farmakodinamik	Tikus OLETF	Metformin (100 mg/kg/hari) dan ekstrak (200 mg/kg/hari) selama 12 minggu	↑ Metabolisme glukosa dan sensitivitas insulin	(J.-H. Wang *et al.*, 2017)
4	Murbei (*Morus alba* L)	Farmakokinetik	Tikus diabetes diinduksi streptozotosin	Ekstrak 600 mg/kg selama 3 minggu, metformin 50 mg/kg	Penghambatan hOCT2 sehingga eliminasi Met ↓	(Huh *et al.*, 2020)
5	Pisang (*Musa Sapientum* L)	Farmakokinetik	Tikus diabetes diinduksi aloksan	Jus kulit (100 mL/kg) 8 minggu, dosis tunggal metformin 350 mg/kg	↑ konsentrasi metformin dalam plasma	(Darvhekar *et al.*, 2016)

No	Tanaman herbal	Jenis interaksi	Eksperimen		Observasi	Referensi
6	Pare *(Momordica charantia L)*	Farmakodinamik	Tikus diabetes diinduksi aloksan	Kombinasi jus pare dan metformin dua kali sehari, 3 minggu pengobatan	Kadar glukosa darah ↓, terjadi hipoglikemia	(Pramesthi *et al.*, 2019)
		Farmakodinamik	Tikus diabetes diinduksi streptozotosin	Jus pare 20 mL/kg dengan metformin dosis rendah (50 mg/kg) dan tinggi (100 mg/kg)	Efek sinergis dalam menurunkan glukosa, hipoglikemia	(Poonam *et al.*, 2013)
		Farmakodinamik	Tikus diabetes diinduksi aloksan	Ekstrak (150 mg/kg) dan metformin (7.5 mg/kg) selama 4 minggu	↓ kadar glukosa darah meningkat, ↑ kadar glikogen di hati	(Islam *et al.*, 2018)
		Farmakodinamik	Tikus diabetes diinduksi streptozotosin	Ekstrak (500 mg/kg) dan metformin (55 mg/kg) selama 28 hari	Efek sinergis dalam menurunkan kadar glukosa darah	(Vijaya *et al.*, 2014)
7	Kopiah Cina *(Scutellaria baicalensis)*	Farmakodinamik	Pasien DM tipe 2 (20-75 tahun), menggunakan metformin, dan kadar glukosa puasa 110-180 mg/dL	Metformin (1,5 g/hari) 30 menit setelah makan selama 8 minggu dengan kapsul ekstrak (3,52 g/hari)	↑ toleransi glukosa, ↑ efek peradangan, tidak ada toksisitas	(Shin *et al.*, 2020)
		Farmakodinamik	Tikus OLETF	Metformin (100 mg/5 mL/kg/hari) dan ekstrak (200 mg/5 mL/ kg/hari) selama 12 minggu	Efek sinergis dalam ↓ glukosa dan kolesterol dalam serum	(Han *et al.*, 2017)
		Farmakokinetik	Tikus jantan Sprague-Dawley	Metformin (100 mg/kg) dengan ekstrak (200 mg/kg), periode pengobatan 28 hari	Penghambatan MATE1 di hati, ↑ toleransi glukosa, ↑ kadar laktat dalam plasma, tidak terdeteksi hipoglikemia	(Yim *et al.*, 2017)
8	Kelapa *(Cocos nucifera)*	Farmakodinamik	Tikus diabetes diinduksi streptozotocin	Ekstrak (500 mg/kg) dengan metformin (22,5 mg/kg) periode 28 hari	Efek aditif terhadap ↓ kadar glukosa plasma	(Kaur *et al.*, 2020)

3.2 Kamperfuli (Lonicera japonica Thunb)

Bunga kering *Lonicera japonica* Thunb digunakan sebagai ramuan obat tradisional dimana telah dilaporkan empat senyawa baru dan dua puluh senyawa yang diketahui diisolasi dari kuncup bunganya (Liu *et al.*, 2016). Bunga *L. japonica* memiliki aktivitas farmakologi sebagai antidiabetes (Han *et al.*, 2015). Kandungan polisakarida yang diekstrak dari kuncup bunga *L. japonica* telah dilaporkan menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap α-glukosidase dan α-amilase pada uji *in vitro* serta efek hipoglikemik pada uji *in vivo* tikus yang diinduksi streptozotosin dalam mengurangi kadar glukosa dan meredakan resistensi insulin (D. Wang *et al.*, 2017). Sebuah penelitian mengenai uji praklinik metformin dengan ekstrak etanol *L. japonica* yang dievaluasi secara *in vitro* menggunakan sel HEK-293 menunjukkan ekstrak menghambat penyerapan metformin yang dimediasi MATE1 dalam waktu 28 hari pengobatan bersama. Percobaan pada tikus secara *in vivo* menunjukkan ekstrak meningkatkan konsentrasi metformin di hati sebagai tempat target

farmakologis metformin serta peningkatan aktivitas toleransi glukosa tanpa perubahan kadar sistemik dibandingkan menggunakan metformin saja (Han *et al.*, 2019).

3.3 Amis-amisan (Houttuynia cordata)

Houttuynia cordata Thunb merupakan herba yang biasa digunakan sebagai pengobatan tradisional Cina yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai antihiperglikemik dan antihiperlipidemia (Patcharee *et al.*, 2017). Tanaman *H. cordata* juga dilaporkan menunjukkan efek renoprotektif (Fang & Wang, 2017). Uji praklinis penggunaan kombinasi metformin dengan *H. cordata* secara bersama-sama selama 28 hari menunjukkan aktivitas penurunan glukosa karena distribusi metformin di hati meningkat. Peningkatan penyerapan metformin melalui rOCT1 menyebabkan tingginya distribusi, sedangkan pengaturan melalui rOCT2 di ginjal menurunkan ekskresi metformin melalui ginjal dan mengakibatkan kadar metformin dalam darah menjadi lebih besar. Namun demikian, kombinasi *H. cordata* dan metformin menunjukkan tidak adanya perubahan fungsi pada hati dan ginjal serta risiko hipoglikemia (You *et al.*, 2018). Sebuah penelitian dengan menggunakan tikus OLETF (*Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty*) menunjukkan bahwa kombinasi obat sinergis meningkatkan sensitivitas insulin serta metabolisme glukosa yang berhubungan dengan pengurangan endotoksin dan stres inflamasi serta endotoksemia melalui pengaturan mikrobiota usus, khususnya bakteri akkermansia, roseburia, dan gram-negatif. Kombinasi ini juga menunjukkan peningkatan HDL serta penurunan kadar trigliserida dan kolesterol total. Oleh karena itu, kombinasi ini dapat menjadi kandidat yang lebih efisien untuk pengobatan diabetes tipe 2 dan hiperlipidemia (J.H. Wang *et al.*, 2017).

3.4 Murbei (Morus alba L)

Murbei merupakan obat tradisional Cina yang dikenal dengan efek terapeutiknya terhadap diabetes dan komplikasinya. Daun murbei memiliki komponen utama berupa alkaloid, polisakarida, dan flavon yang dilaporkan memiliki efek hipoglikemik atau penurunan kadar glukosa dan efek perlindungan terhadap kerusakan hati dan ginjal (Zhang *et al.*, 2019). Telah dilaporkan bahwa DNJ (*1-deoxynojirimycin*) pada murbei dapat mengurangi hiperglikemia postprandial tanpa efek samping yang serius terutama pada gastrointestinal seperti perut kembung (Thaipitakwong *et al.*, 2020). Ekstrak *M. alba* L dapat menurunkan tingkat eliminasi metformin sehingga mengurangi penyerapan metformin ke ginjal dengan menghambat hOCT2 yang tergantung pada konsentrasi. Pengujian ekstrak dengan sel HEK-293 saat mencapai 100 μg/mL menunjukkan penghambatan pada hOCT2. Pemberian ekstrak dengan metformin dapat mengurangi efek samping metformin yang tidak diinginkan dengan mengurangi dosis metformin yaitu dengan mengubah sifat farmakokinetik

metformin melalui pengurangan penyerapan metformin ke ginjal dengan menghambat hOCT2 tersebut (Huh *et al.*, 2020).

3.5 Pisang (Musa sapientum)

Berdasarkan laporan sebelumnya, *M. sapientum* yang merupakan keluarga *Musaceae* menunjukkan aktivitas sebagai ansiolitik, antihiperglikemik, antioksidan, dan efek amelioratif (Adegoke *et al.*, 2016; Cortez-Navarrete *et al.*, 2018; Reddy *et al.*, 2017). Jus kulit *M. sapientum* menunjukkan aktivitas dalam pengobatan gastroparesis diabetes, dan pemberian dengan metformin menunjukkan peningkatan parameter farmakokinetik yang ditandai dengan terjadinya peningkatan konsentrasi metformin dalam plasma (*Cmax*) sehingga penurunan kadar glukosa juga meningkat (Darvhekar *et al.*, 2016). Aktivitas antidiabetes ekstrak aseton kulit *M. sapientum* yaitu dengan meningkatkan sekresi insulin yang dapat menurunkan kadar glukosa dan HbA1c (Murthy & Felicia, 2015).

3.6 Pare (Momordica charantia L)

Momordica charantia atau yang dikenal sebagai pare dilaporkan memiliki efek terhadap penurunan kadar glukosa darah pada pasien DM tipe 2 (Kim *et al.*, 2020). Senyawa bioaktif yang dapat memberikan efek antidiabetes pada *M. charantia* yaitu polisakarida dan saponin. Polisakarida memberikan efek dengan cara memperbaiki sel-sel pankreas yang dirusak oleh streptozotosin pada tikus sedangkan saponin mungkin terlibat dalam jalur sinyal AMPK dengan mengaktifkan fosforilasi AMPK dan mengatur metabolisme energi tubuh (Wang *et al.*, 2019). Uji praklinis dengan tikus yang diinduksi aloksan yang diberikan metformin dan *M. charantia* secara bersamaan dianggap aman sebagai terapi antidiabetik sehari sekali dan tidak terjadi interaksi obat, berbeda dengan dosis dua kali sehari yang menyebabkan penurunan kadar glukosa darah disertai hipoglikemia (Pramesthi *et al.*, 2019) dan peningkatan kadar glikogen di hati (Islam *et al.*, 2018). Penelitian pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin, menunjukkan bahwa pemberian kombinasi dapat meningkatkan penurunan kadar glukosa darah (Vijaya *et al.*, 2014) serta terjadi hipoglikemia (Poonam *et al.*, 2013).

3.7 Kopiah Cina (Scutellaria baicalensis)

Scutellaria baicalensis dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis sebagai antibakteri, antiinflamasi (Xia *et al.*, 2020) dan efek kuratif pada nefropati diabetik (Men *et al.*, 2021). Kandungan utama bioaktif dari akar *S. baicalensis* diantaranya *baicalin*, *wogonoside*, serta *oroxyloside* (Zhang *et al*., 2018). Sebuah penelitian uji klinis melaporkan bahwa kombinasi metformin dengan *S. baicalensis* meningkatkan resistansi glukosa dan memberikan efek pada peradangan dengan mengurangi ekspresi gen TNF pada penderita DM tipe 2. Kombinasi ini juga memperbaiki metabolisme glukosa dengan melalui modulasi mikrobiota usus serta tidak menunjukkan adanya toksisitas dilihat dari

kadar enzim hati (Shin *et al.*, 2020). Penelitian tersebut mendukung uji praklinis pada tikus dengan pengobatan 28 hari yang menunjukkan penghambatan MATE1 di hati sehingga terjadi penurunan ekskresi metformin yang menyebabkan konsentrasi metformin di hati menjadi lebih tinggi. Penelitian ini melaporkan adanya peningkatan toleransi glukosa tanpa hipoglikemia dan disertai dengan meningkatnya kadar asam laktat (Yim *et al.*, 2017). Uji praklinis lain juga melaporkan bahwa penggunaan kombinasi metformin dengan *S. baicalensis* lebih efektif dalam menurunkan glukosa dan kolesterol serum dibandingkan hanya dengan metformin saja (Han *et al.*, 2017). Adapun penelitian lain pada tikus OLETF, kombinasi pengobatan ini menunjukkan efek sinergis terhadap peningkatan sensitivitas insulin dan pengurangan kadar kolesterol total dengan ekskresi asam empedu melalui feses. Kombinasi ini mempengaruhi aktivasi CYP7A1, dan represi HMGCR di hati (Han *et al.*, 2017).

3.8 Kelapa (Cocos nucifera L)

Akar kelapa menunjukkan aktivitas analgesik, sifat sedatif, antiepilepsi, dan antibakteri, sedangkan bunga kelapa sebagai antidiabetes, antiinflamasi, serta sitoprotektif (Singla & Dubey, 2019). Air kelapa biasanya digunakan sebagai pengobatan diare pada anak, rehidrasi oral serta gastroenteritis. Air kelapa menunjukkan aktivitas untuk mencegah hipoglikemik dan stres oksidatif pada tikus yang diinduksi aloksan (da Silva *et al.*, 2015). Sebuah penelitian uji praklinik melaporkan bahwa kombinasi metformin dengan *C. nucifera* menunjukkan efek antidiabetes yang signifikan dibandingkan dengan pemberian ekstrak saja. Metformin diduga meningkatkan pengambilan glukosa dalam jaringan perifer sedangkan ekstrak *C. nucifera* memiliki efek kuratif pada kerusakan pankreas dengan cara memperbaiki dan meremajakan sel β pankreas serta menghambat enzim α-glukosidase (Kaur *et al.*, 2020).

4. Kesimpulan

Penggunaan metformin dengan beberapa herbal seperti ginseng Korea (*Panax ginseng*), kamperfuli (*Lonicera japonica*), amis-amisan (*Houttuynia cordata*), murbei (*Morus alba*), pisang (*Musa sapientum*), pare *(Momordica charantia),* kopiah Cina *(Scutellaria baicalensis)*, dan kelapa *(Cocos nucifera)* menunjukkan adanya interaksi obat baik secara farmakokinetik maupun farmakodinamik. Interaksi farmakokinetik dimediasi oleh protein transporter seperti OCT1, MATE1, dan hOCT2 pada proses distribusi sedangkan interaksi farmakodinamik menunjukkan efek (aditif/sinergis) dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Daftar pustaka

Abouzekry, S. S., Badawy, M. T., Ezzelarab, N. M., & Abdellatif, A. (2021). Phytotherapy for diabetes mellitus; A review of Middle Eastern and North African folk medicinal plants. *J Herbmed Pharmacol*, *10*(1), 1-13. https://doi.org/10.34172/jhp.2021.01

Adegoke, G. A., Onasanwo, S. A., Eyarefe, O. D., & Olaleye, S. B. (2016). Ameliorative effects of Musa sapientum peel extract on acetic acid-induced colitis in rats. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, *77*, 49-55. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2016.06.004

Choi, J., Kim, K.-J., Koh, E.-J., & Lee, B.-Y. (2018). Gelidium elegans Extract Ameliorates Type 2 Diabetes via Regulation of MAPK and PI3K/Akt Signaling. *Nutrients*, *10*(1), 51. https://doi.org/10.3390/nu10010051

Cortez-Navarrete, M., Martínez-Abundis, E., Pérez-Rubio, K. G., González-Ortiz, M., & Méndez-Del Villar, M. (2018). Momordica charantia Administration Improves Insulin Secretion in Type 2 Diabetes Mellitus. *J Med Food*, *21*(7), 672-677. https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0114

Cusinato, D. A. C., Martinez, E. Z., Cintra, M. T. C., Filgueira, G. C. O., Berretta, A. A., Lanchote, V. L., & Coelho, E. B. (2019). Evaluation of potential herbal-drug interactions of a standardized propolis extract (EPP-AF®) using an in vivo cocktail approach. *J Ethnopharmacol*, *245*, 112174. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112174

da Silva, L. A., Pezzini, B. R., & Soares, L. (2015). Spectrophotometric Determination of The Total Flavonoid Content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) Leaves. *Pharmacogn Mag*, *11*(41), 96-101. https://doi.org/10.4103/0973-1296.149721

Dai, S., Hong, Y., Xu, J., Lin, Y., Si, Q., & Gu, X. (2018). Ginsenoside Rb2 promotes glucose metabolism and attenuates fat accumulation via AKT-dependent mechanisms. *Biomed Pharmacother*, *100*, 93-100. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.111

Darvhekar, V., Tripathi, A. S., Jyotishi, S. G., Mazumder, P. M., & Shelke, P. G. (2016). Influence of *Musa sapientum* L. on Pharmacokinetic of Metformin in Diabetic Gastroparesis *Chin. J. Integr. Med*, *22*, 783–788. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11655-016-2520-3

Dujic, T., Causevic, A., Bego, T., Malenica, M., Velija-Asimi, Z., Pearson, E. R., & Semiz, S. (2016). Organic cation transporter 1 variants and gastrointestinal side effects of metformin in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*, *33*(4), 511-514. https://doi.org/10.1111/dme.13040

Elango, H., Ponnusankar, S., & Sundaram, S. (2015). Assessment of Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Interaction of Aqueous Extract of Cassia auriculata L. and Metformin in Rats. *Pharmacogn Mag*, *11*(Suppl 3), S423-426. https://doi.org/10.4103/0973-1296.168986

Fan, W., Huang, Y., Zheng, H., Li, S., Li, Z., Yuan, L., Cheng, X., He, C., & Sun, J. (2020). Ginsenosides for the treatment of metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Pharmacology and mechanisms. *Biomed Pharmacother*, *132*, 110915. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110915

Fang, Y., & Wang, H.-y. (2017). Protective Effects and Underlying Mechanisms of Compound Herba Houttuyniae in db/db Mice. *Chinese Herbal Medicines*, *9*, 381-387. https://doi.org/10.1016/S1674-6384(17)60119-9

Gupta, R. C., Chang, D., Nammi, S., Bensoussan, A., Bilinski, K., & Roufogalis, B. D. (2017). Interactions between antidiabetic drugs and herbs: an overview of mechanisms of action and clinical implications. *Diabetology & metabolic syndrome*, *9*, 59-59. https://doi.org/10.1186/s13098-017-0254-9

Han, J. M., Kim, M. H., Choi, Y. Y., Lee, H., Hong, J., & Yang, W. M. (2015). Effects of Lonicera japonica Thunb. on Type 2 Diabetes via PPAR-γ Activation in Rats. *Phytother Res*, *29*(10), 1616-1621. https://doi.org/10.1002/ptr.5413

Han, K., Bose, S., Wang, J. H., Lim, S. K., Chin, Y. W., Kim, Y. M., Choi, H. S., & Kim, H. (2017). In vivo therapeutic effect of combination treatment with metformin and Scutellaria baicalensis on

maintaining bile acid homeostasis. *PLoS One*, *12*(9), e0182467. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182467

Han, S. Y., Chae, H. S., You, B. H., Chin, Y. W., Kim, H., Choi, H. S., & Choi, Y. H. (2019). Lonicera japonica extract increases metformin distribution in the liver without change of systemic exposed metformin in rats. *J Ethnopharmacol*, *238*, 111892. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111892

Huh, H. W., Na, Y.-G., Bang, K.-H., Kim, S.-J., Kim, M., Kim, K.-T., Kang, J.-S., Kim, Y.-H., Baek, J.-S., Lee, H.-K., & Cho, C.-W. (2020). Extended Intake of Mulberry Leaf Extract Delayed Metformin Elimination via Inhibiting the Organic Cation Transporter 2. *Pharmaceutics*, *12*(1), 49. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12010049

IDF. (2019). *IDF Diabetes Atlas Ninth edition 2019* Ninth ed., International Diabetes Federation

Islam, M., Islam, M. S., Zannah, S., Sadik, M., & Rashid, M. (2018). Momordica charantia (Bitter melon) in Combination with Metformin Potentiates Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects in Alloxan-induced Diabetic Rats. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, *21*, 109. https://doi.org/10.3329/bpj.v21i2.37921

Jin, S., Lee, S., Jeon, J. H., Kim, H., Choi, M. K., & Song, I. S. (2019). Enhanced Intestinal Permeability and Plasma Concentration of Metformin in Rats by the Repeated Administration of Red Ginseng Extract. *Pharmaceutics*, *11*(4). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11040189

Jovanovski, E., Smircic-Duvnjak, L., Komishon, A., Au-Yeung, F. R., Sievenpiper, J. L., Zurbau, A., Jenkins, A. L., Sung, M.-K., Josse, R., Li, D., & Vuksan, V. (2021). Effect of coadministration of enriched Korean Red Ginseng (Panax ginseng) and American ginseng (Panax quinquefolius L) on cardiometabolic outcomes in type-2 diabetes: A randomized controlled trial. *Journal of ginseng research*, *45*(5), 546-554. https://doi.org/10.1016/j.jgr.2019.11.005

Kaur, G., Sankrityayan, H., Dixit, D., & Jadhav, P. (2020). Cocos nucifera and metformin combination for modulation of diabetic symptoms in streptozotocin induced diabetic rats. *J Ayurveda Integr Med*, *11*(1), 3-9. https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.02.006

Kemenkes_RI. (2019). *Pedoman Pelayanan Kefarmasian pada Diabetes Melitus* Jakarta: Kemenkes RI

Kennedy, M. S. N., & Masharani, U. (2018). *Basic & Clinical Pharmacology* Fourteenth ed., New York: McGraw-Hill Education.760

Kim, S. K., Jung, J., Jung, J. H., Yoon, N., Kang, S. S., Roh, G. S., & Hahm, J. R. (2020). Hypoglycemic efficacy and safety of Momordica charantia (bitter melon) in patients with type 2 diabetes mellitus. *Complement Ther Med*, *52*, 102524. https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102524

Liang, X., Chien, H. C., Yee, S. W., Giacomini, M. M., Chen, E. C., Piao, M., Hao, J., Twelves, J., Lepist, E. I., Ray, A. S., & Giacomini, K. M. (2015). Metformin Is a Substrate and Inhibitor of the Human Thiamine Transporter, THTR-2 (SLC19A3). *Mol Pharm*, *12*(12), 4301-4310. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00501

Liu, Z., Cheng, Z., He, Q., Lin, B., Gao, P., Li, L., Liu, Q., & Song, S. (2016). Secondary metabolites from the flower buds of Lonicera japonica and their in vitro anti-diabetic activities. *Fitoterapia*, *110*, 44-51. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.02.011

Men, L.-H., Pi, Z.-F., Hu, M.-X., Liu, S., Liu, Z.-Q., Song, F.-R., Chen, X., & Liu, Z.-Y. (2021). Serum Metabolomics Coupled with Network Pharmacology Strategy to Explore Therapeutic Effects of Scutellaria Baicalensis Georgi on Diabetic Nephropathy. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, *49*(1), e21001-e21013. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1872-2040(20)60075-5

Meng, F., Su, X., Li, W., & Zheng, Y. (2017). Ginsenoside Rb3 strengthens the hypoglycemic effect through AMPK for inhibition of hepatic gluconeogenesis. *Exp Ther Med*, *13*(5), 2551-2557. https://doi.org/10.3892/etm.2017.4280

Mouly, S., Lloret-Linares, C., Sellier, P. O., Sene, D., & Bergmann, J. F. (2017). Is the clinical relevance of drug-food and drug-herb interactions limited to grapefruit juice and Saint-John's Wort? *Pharmacol Res*, *118*, 82-92. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.09.038

Murthy, S. S. N., & Felicia, C. (2015). Antidiabetic Activity of Musa sapientum Fruit Peel on STZ Induced Diabetic Rats. *Int J Pharm Bio Sci 6*(1), 537-543.

Nam, S. J., Han, Y. J., Lee, W., Kang, B., Choi, M. K., Han, Y. H., & Song, I. S. (2018). Effect of Red Ginseng Extract on the Pharmacokinetics and Efficacy of Metformin in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pharmaceutics*, *10*(3). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030080

Patcharee, P., Wilawan, P., & Chusri, T. (2017). Anti-hyperglycemic and Anti-hyperlipidemic Effects of Extract from Houttuynia cordata Thumb. in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pharmacognosy Journal*, *9*(3). /files/PJ-9-3/10.5530pj.2017.3.65

Perkeni. (2019). *Pedoman pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 dewasa di Indonesia 2019* Perkumpulan Endokrinol. Indonesia.1–117

Poonam, T., Prem Prakash, G., & Vijay Kumar, L. (2013). Interaction of Momordica Charantia with Metformin in Diabetic Rats. *Am. J. Pharmacol. Toxicol 8*, 102–106. https://doi.org/ https://doi.org/10.3844/ajptsp.2013.102.106

Pramesthi, A., Ardana, M., & Indriyanti, N. (2019). Drug-Herb Interaction between Metformin and Momordica charantia in Diabetic Mice. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, *3*, 81. https://doi.org/10.21705/mcbs.v3i2.47

Rajkapoor, B., & Pakkir Maideen, N. M. (2018). Pharmacologically relevant drug interactions of sulfonylurea antidiabetics with common herbs. *Journal of HerbMed Pharmacology*, *7*. https://doi.org/10.15171/jhp.2018.32

Ramachandran, A. (2014). Know the signs and symptoms of diabetes. *The Indian journal of medical research*, *140*(5), 579-581. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25579136

Reddy, A. J., Dubey, A. K., Handu, S., Sachin, M., Mediratta, P. K., & Mushtaq, Q. A. (2017). Effects of Musa sapientum stem extract on experimental models of anxiety. *Avicenna journal of phytomedicine*, *7*(6), 495-501. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29299432

Sease, J., & Shealy, K. (2016). *Pharmacotherapy Principles & Practice* Fourth ed., New York: McGraw-Hill Education Companies.651

Shin, N. R., Gu, N., Choi, H. S., & Kim, H. (2020). Combined effects of Scutellaria baicalensis with metformin on glucose tolerance of patients with type 2 diabetes via gut microbiota modulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *318*(1), E52-e61. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00221.2019

Singla, R. K., & Dubey, A. K. (2019). Phytochemical Profiling, GC-MS Analysis and α-Amylase Inhibitory Potential of Ethanolic Extract of Cocos nucifera Linn. Endocarp. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, *19*(4), 419-442. https://doi.org/10.2174/1871530319666181128100206

Thaipitakwong, T., Supasyndh, O., Rasmi, Y., & Aramwit, P. (2020). A randomized controlled study of dose-finding, efficacy, and safety of mulberry leaves on glycemic profiles in obese persons with borderline diabetes. *Complement Ther Med*, *49*, 102292. https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102292

Trujillo, J., & Haines, S. (2020). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach* 11 ed., New York: Mc Graw-Hill.3573

van den Berg, J. P., Vereecke, H. E., Proost, J. H., Eleveld, D. J., Wietasch, J. K., Absalom, A. R., & Struys, M. M. (2017). Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions in anaesthesia. A review of current knowledge and how it can be used to optimize anaesthetic drug administration. *Br J Anaesth*, *118*(1), 44-57. https://doi.org/10.1093/bja/aew312

Vijaya, K., Sunitha, S., Khan, P. A. H., Sandhya, P., Sujatha, D., & Reddy, G. G. (2014). Synergistic Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of Momordica Charantia and Metformin in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *World J. Pharm. Res*, *3*, 1890–1901.

Wang, D., Zhao, X., & Liu, Y. (2017). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of a polysaccharide from flower buds of Lonicera japonica in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Biol Macromol*, *102*, 396-404. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.056

Wang, J.-H., Bose, S., Lim, S.-K., Ansari, A., Chin, Y.-W., Choi, H. S., & Kim, H. (2017). Houttuynia cordata Facilitates Metformin on Ameliorating Insulin Resistance Associated with Gut Microbiota Alteration in OLETF Rats. *Genes*, *8*(10), 239. https://doi.org/10.3390/genes8100239

Wang, Q., Wu, X., Shi, F., & Liu, Y. (2019). Comparison of antidiabetic effects of saponins and polysaccharides from Momordica charantia L. in STZ-induced type 2 diabetic mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *109*, 744-750. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.098

Xia, Y.-T., Chan, G. K.-L., Wang, H.-Y., Dong, T. T.-X., Duan, R., Hu, W.-H., Qin, Q.-W., Wang, W.-X., & Tsim, K. W.-K. (2020). The anti-bacterial effects of aerial parts of Scutellaria baicalensis [21_Publication in refereed journal]. *Potential application as an additive in aquaculture feedings*, *526*. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735418

Xiao, N., Lou, M. D., Lu, Y. T., Yang, L. L., Liu, Q., Liu, B., Qi, L. W., & Li, P. (2017). Ginsenoside Rg5 attenuates hepatic glucagon response via suppression of succinate-associated HIF-1α induction in HFD-fed mice. *Diabetologia*, *60*(6), 1084-1093. https://doi.org/10.1007/s00125-017-4238-y

Yim, S., You, B. H., Chae, H. S., Chin, Y. W., Kim, H., Choi, H. S., & Choi, Y. H. (2017). Multidrug and toxin extrusion protein 1-mediated interaction of metformin and Scutellariae radix in rats. *Xenobiotica*, *47*(11), 998-1007. https://doi.org/10.1080/00498254.2016.1257836

Yoo, J. H., Yim, S. V., & Lee, B. C. (2018). Study of Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Interaction of Bojungikki-Tang with Aspirin in Healthy Subjects and Ischemic Stroke Patients. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. https://doi.org/ https://doi.org/10.1155/2018/9727240

You, B. H., Chin, Y. W., Kim, H., Choi, H. S., & Choi, Y. H. (2018). Houttuynia cordata extract increased systemic exposure and liver concentrations of metformin through OCTs and MATEs in rats. *Phytother Res*, *32*(6), 1004-1013. https://doi.org/10.1002/ptr.6036

Zhang, L., Su, S., Zhu, Y., Guo, J., Guo, S., Qian, D., Ouyang, Z., & Duan, J. A. (2019). Mulberry leaf active components alleviate type 2 diabetes and its liver and kidney injury in db/db mice through insulin receptor and TGF-β/Smads signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, *112*, 108675. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108675

Zhang, X. J., Liu, S., Xing, J. P., Liu, Z. Q., & Song, F. R. (2018). Effect of type 2 diabetes mellitus on flavonoid pharmacokinetics and tissue distribution after oral administration of Radix Scutellaria extract in rats. *Chin J Nat Med*, *16*(6), 418-427. https://doi.org/10.1016/s1875-5364(18)30075-x

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 26-33
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi daun sembung (*Blumea balsamifera*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Cytotoxic test of extract and fractions from *Blumea balsamifera* leaves using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Azimatur Rahmi*, Tika Afriani, Aini

Universitas Mohammad Natsir Bukittinggi, Bukittinggi, Sumatera Barat
**Corresponding author*: azimatur.rahmi046@gmail.com

Abstract

Background: Cancer is one of the main causes of death in the world for which no medicine has been found to date. One of the potential plants is *Blumea balsamiferia*.
Objective: This study aimed to determine the cytotoxic effect of *B. balsamifera* leaf extract and fractions.
Methods: The test was carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) on 48-hour-old shrimp (*Artemia salina* Leach) larvae. The concentrations of the test sample used were 10, 100, and 1000 ppm. Meanwhile, the negative control group was DMSO. Observations were made for 24 hours on larva deaths. The LC_{50} value was obtained using the probit analysis.
Results: The ethyl acetate fraction and ethanol extract were in the highly toxic category with LC_{50} values of 11.03 ppm and 20.28 ppm, while the n-hexane fraction and water fraction were in the toxic range with LC_{50} values of 67.82 ppm and 448.56 ppm, respectively.
Conclusion: The extract and fractions of *B. balsamifera* leaves have a cytotoxic effect.
Keywords: Brine shrimp lethality test, cytotoxic, *Blumea balsamifera* leaf

Intisari

Latar belakang: Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia yang belum ditemukan obatnya hingga sekarang. Salah satu tanaman yang berpotensi yaitu tumbuhan sembung (*Blumea balsamiferia).*
Tujuan: Penelitian ini untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak dan fraksi daun sembung.
Metode: Pengujian dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) yang berumur 48 jam. Konsentrasi sampel uji yang yang digunakan 10, 100, dan 1000 ppm. Kontrol negatif menggunakan DMSO. Pengamatan dilakukan selama 24 jam pada kematian larva. Nilai LC_{50} diperoleh menggunakan analisis probit.
Hasil: Fraksi etil asetat dan ekstrak etanol berada dalam kategori sangat toksik dengan nilai LC_{50} 11,03 ppm dan 20,28 ppm sedangkan fraksi n-heksan dan fraksi sisa air berada pada rentang toksik dengan nilai LC_{50} 67,82 ppm dan 448, 56 ppm.
Kesimpulan: Ekstrak daun sembung memiliki efek sitotoksik.
Kata kunci: *Brine shrimp lethality test*, daun sembung (*Blumea balsamifera*), sitotoksik

1. Pendahuluan

Tumbuhan merupakan bahan alam yang berpotensi sebagai sumber molekul yang berkhasiat terapetik dan inisiator dalam riset penemuan obat baru untuk mengatasi berbagai penyakit, terutama kanker yang menjadi salah satu penyebab utama kematian di dunia (Haryanti *et al.*, 2017). Beberapa tumbuhan di Indonesia telah diketahui memiliki aktivitas sitotoksik atau antikanker

seperti ekstrak metanol kulit batang pohon pulai basung (*Alstonia spatulata* Bl) yang memiliki aktivitas sitotoksik kuat dengan nilai LC_{50} sebesar 163 ppm (Arel *et al.*, 2018). Penelitian Susanty *et al.* (2018) terhadap ekstrak etil asetat daun tampa badak (*Voacanga foetida*) diketahui dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa daun saga (*Abrus precatorius*) juga memiliki aktivitas antikanker (Juniarti *et al.*, 2009).

Sembung (*Blumea balsamifera*) merupakan tanaman liar dan mudah dibudidayakan serta dapat digunakan sebagai obat (Widhiantara *et al.*, 2018). Tanaman sembung mengandung lebih dari 100 senyawa fitokimia yang tergolong ke dalam senyawa volatil maupun non volatil antara lain minyak atsiri, asam miristat, asam palmitat, tanin dan flavonoid (Pang *et al.*, 2014). Tanaman sembung diketahui memiliki aktivitas farmakologis, diantaranya pada penelitian Norikura *et al.* (2008) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol dapat menghambat perkembangan sel hepatoseluler karsinoma yang diujikan pada tikus dan mencit. Penelitian oleh Rahmi *et al.* (2021a) juga mengungkapkan bahwa ekstrak metanol daun sembung memiliki efektivitas antipiretik yang diujikan pada mencit. Selain itu, fraksi etil asetatnya juga memiliki aktivitas antioksidan yang dibuktikan dengan pengukuran kadar total fenoliknya (Rahmi *et al.*, 2021b). Efek farmakologis dari tumbuhan disebabkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya.

Salah satu metode awal untuk pengujian sitotoksik yaitu dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) (Fadhli *et al.*, 2019). Hasil uji ini dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi bioaktivitas tanaman yang lebih luas (Zuraida, 2018). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas toksisitas ekstrak dan fraksi daun sembung terhadap larva *A. salina.*

2. Metodologi penelitian

2.1. Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut: *rotary evaporator*, corong pisah, timbangan analitik, gelas ukur, tabung reaksi, pipet tetes, vial, kertas saring, corong, pinset, tisu, spatula, alumunium foil.

Bahan yang digunakan adalah larva udang yang berumur 48 jam yang dihitung dari waktu penetasan telurnya, air suling, etanol 70%, n-heksana, etil asetat, kloroform, serbuk logam Mg, $HCl_{(p)}$, $FeCl_3$, DMSO, *carbon adsorbent*, asam asetat anhidrat, $H_2SO_{4(P),}$ pereaksi Lieberman-Burchard, amonia, pereaksi Mayer, air laut. Sampel yang digunakan adalah daun sembung yang diperoleh di daerah Ranto Panjang, kecamatan Gunung Tuleh, kabupaten Pasaman Barat, Provinsi Sumatera Barat.

2.2. Ekstraksi dan fraksinasi

Tumbuhan sampel penelitian diidentifikasi secara morfologi di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dengan hasil berupa spesies *Blumea balsamifera (L.) DC*. yang termasuk dalam famili *Compositae*. Daun yang dipilih adalah yang sudah tua dan waktu pemetikan di pagi hari. Sampel dibersihkan dari kotoran yang menempel kemudian disortasi, dirajang dan dikeringanginkan sehingga didapatkan simplisia. Selanjutnya simplisia tersebut dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 3 hari perendaman yang dilakukan secara berulang sebanyak empat kali sampai diperoleh hasil perendaman berwarna bening. Pada saat perendaman sesekali dilakukan pengadukan pada sampel. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring yang kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut yang berupa larutan non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), dan polar (air). Sebanyak 1/3 ekstrak etanol ditambahkan dengan air dan n-heksan yang dimasukkan ke dalam corong pemisah. Proses ini dilakukan secara berulang hingga larutan tidak memiliki warna lagi dan diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi air. Fraksi n-heksan kemudian dilakukan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental n-heksan. Untuk fraksi etil asetat, langkah yang digunakan juga sama seperti fraksi n-heksan. Hasil akhir didapatkan fraksi fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air, yang kemudian dilakukan skrining fitokimia.

2.3. Uji fitokimia

Sebanyak 0,5 g ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan kloroform dan air sebanyak 5 mL (1:1) lalu dikocok kuat dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan yaitu lapisan air dan kloroform.

2.3.1. Uji flavonoid (Sianidin test)

Pengujian dilakukan dengan meletakkan 1–2 tetes lapisan air pada plat tetes yang kemudian ditambahkan sedikit serbuk logam Mg dan beberapa tetes $HCl_{(p)}$. Jika timbul warna kuning-orange sampai merah, maka ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid (Arel *et al.*, 2018).

2.3.2. Uji fenolik

Satu hingga dua lapisan air diteteskan pada plat kemudian ditambahkan 1-2 tetes pereaksi $FeCl_3$. Warna biru yang terbentuk menandakan adanya senyawa fenolik (Arel *et al.*, 2018).

2.3.3. Uji saponin

Lapisan air dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dikocok. Jika terbentuk busa yang permanen (± 15 menit), maka menunjukkan adanya saponin dalam ekstrak tersebut (Arel *et al.*, 2018).

2.3.4. Uji terpenoid dan steroid (metode Simes)

Lapisan kloroform disaring menggunakan *carbon adsorben*. Hasil saringannya diambil 2-3 tetes kemudian diteteskan pada plat dan dibiarkan mengering. Lalu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi *Lieberman-Bouchard*). Jika terbentuk warna merah bata berarti ekstrak mengandung terpenoid dan jika terbentuk warna biru atau hijau berarti positif steroid (Arel *et al.*, 2018).

2.4. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Ekstrak dan fraksi daun sembung dilakukan uji KLT untuk memonitor senyawa yang terkandung didalamnya. Pengujian dilakukan menggunakan pelarut n-heksan: etil asetat (1:2).

2.5. Uji sitotoksik dengan metode BSLT

Penetasan telur udang dilakukan dengan cara merendam telur dalam wadah yang berisi air laut di bawah cahaya lampu 25 watt. Telur yang berumur 48 jam yang digunakan dalam pengujian. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 1000 µg/mL, 100 µg/mL dan 10 µg/mL, dengan kontrol negatif yang diberikan dimetil sulfoksida (DMSO). Tiap konsentrasi larutan uji dimasukan 10 ekor larva udang. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva, dimana setiap konsentrasi dilakukan 3 pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Larva dianggap mati apabila tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi (Fadhli & Hasanah, 2019).

2.6. Analisis data

Dari data yang diperoleh dihitung nilai LC_{50} dengan analisis probit. Jika LC_{50} < 30 ppm maka dikatakan sangat toksik, LC_{50} < 1000 ppm dikatakan toksik, sedangkan LC_{50} > 1000 ppm maka sediaan uji tidak toksik (Dona *et al.*, 2019). Persentase kematian larva udang dapat dihitung dengan persamaan Sumihe *et al.* (2014).

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva udang yang mati}}{\text{jumlah larva yang di uji}} \times 100\%$$

Jika dalam larutan kontrol terdapat larva udang yang mati maka dapat digunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\% \text{ kematian larva uji} - \% \text{ kematian larva kontrol}}{100 - \% \text{ kematian larva kontrol}} \times 100\%$$

Dengan menggunakan persamaan regresi linier adalah y = bx + a; y = 50% kematian dalam persentase probit, a = *intercept* atau nilai yang diperoleh dari persamaan regresi linear, x = log konsentrasi, sehingga didapatkan nilai LC_{50}.

3. Hasil dan pembahasan

Ekstrak kental daun sembung difraksinasi sehingga diperoleh hasil fraksi n-heksan sebanyak 2,81 g, fraksi etil asetat 10,03 g, dan fraksi sisa air 11,46 g. Rendemen yang didapatkan sekitar 2,21 %, dimana semakin besar persentase rendemen maka tinggi efektivitas pengekstrakan sampel yang diperoleh. Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam daun sembung ini maka dilakukan uji skrining fitokimia yang bisa dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun sembung

Uji	Hasil
Flavonoid	+
Fenolik	+
Saponin	+
Terpenoid	+
Steroid	+

Uji kromatografi lapis tipis bertujuan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (Eriadi *et al.*, 2017). Ekstrak dan fraksi daun sembung dilakukan uji KLT dan dipantau pola bercaknya di bawah sinar UV.

Uji sitotoksik metode BSLT menggunakan larva udang yang berumur 48 jam karena pada waktu ini larva sudah memiliki tingkat kepekaan yang tinggi yang disebabkan karena organ-organnya telah lengkap (Arel *et al.*, 2018; Ntungwe N *et al.*, 2020). Berdasarkan morfologinya, larva *A. salina* yang berumur 48 jam sudah mulai mempunyai mulut dan saluran pencernaan padahal cadangan makanannya sudah mulai habis sehingga mulai mencari makan. Oleh karena itu, larva sensitif terhadap suatu zat yang dimasukkan (Fadhli & Hasanah, 2019). Karakteristik larva udang mirip dengan sel kanker sehingga pengujian ini merupakan langkah awal yang dapat dilakukan sebelum mengujikan secara langsung terhadap sel kanker. Hasil pengujian sitotoksik dapat dilihat pada Tabel 2. Dari pengamatan didapatkan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi ekstrak sampel yang diberikan maka semakin besar jumlah kematian larva tersebut.

Nilai LC_{50} yang diperoleh dari hasil pengujian tertera pada Tabel 3. Berdasarkan nilai LC_{50}, fraksi etil asetat dan ekstrak masuk ke dalam kategori yang paling toksik dibandingkan dengan fraksi heksan dan air yang berada dalam kategori toksik. Hasil ini hampir sama dengan ekstrak berenuk (*Crescentia cujete*) yang dilaporkan oleh Arel *et al.* (2018) dengan kategori toksik, serta daun sirsak, buah takokak dan umbi bidara yang dilaporkan oleh Widiyastuti *et al.* (2019) yang juga masuk dalam

kategori toksik. Semakin kecil nilai LC_{50} maka senyawa tersebut semakin toksik (Meyer *et al.*, 1982; Rohmah *et al.*, 2014).

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik terhadap *Artemia salina* Leach

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Jumlah kematian			Total kematian	Rerata kematian	Persen kematian (%)
		P1	P2	P3			
Ekstrak	10	8	8	5	21	0,70	40
	100	10	9	9	28	0,93	86
	1000	8	10	10	28	0,93	86
Fraksi n-heksan	10	7	5	5	17	0,56	12
	100	7	4	7	18	0,60	20
	1000	10	10	10	30	1,00	100
Fraksi etil asetat	10	6	6	8	20	0,66	32
	100	8	10	10	28	0,93	86
	1000	10	10	10	30	1,00	100
Fraksi sisa air	10	8	4	4	16	0,53	6
	100	3	7	6	16	0,53	6
	1000	7	10	10	27	0,90	80
Kontrol	DMSO	6	4	5	15	0,50	50

Efek toksisitas daun sembung dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder. Semakin banyak senyawa metabolit suatu sampel maka akan semakin tinggi efek sitotoksik yang ditimbulkan. Hal ini dikarenakan senyawa metabolit seperti flavonoid dapat bersifat sebagai sitotoksik, seperti pada senyawa kuersetin yang dapat menghambat proliferasi sel. Senyawa tanin dan saponin juga mampu menghambat proliferasi sel kanker (Marwati *et al.*, 2021).

Tabel 3. Nilai LC_{50} fraksi dan ekstrak daun sembung menggunakan metode BSLT

Sampel	Nilai LC_{50} (ppm)
Ekstrak	20,28
Fraksi n-heksan	67,82
Fraksi etil asetat	11,03
Fraksi sisa air	448,56

4. Kesimpulan

Fraksi etil asetat dan ekstrak etanol daun sembung berada dalam kategori sangat toksik dengan nilai LC_{50} 11,03 ppm dan 20,28 ppm sedangkan fraksi heksan dan fraksi sisa air berada pada rentang toksik dengan nilai LC_{50} 67,82 ppm dan 448, 56 ppm.

Ucapan terimakasih

Terima kasih kepada Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan untuk pembiayaan penelitian Anggaran 2020 kontrak Nomor 083/LL10/PG/2020 pada skema Penelitian Dosen Pemula.

Daftar pustaka

Arel, A., Wardi, E. S., & Oktaviani, Y. (2018). Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete* L.) dan Uji Sitotoksik dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. *Jurnal Katalisator, 3*(2), 82-88. doi:http://doi.org/10.22216/jk.v3i2.3165

Dona, R., Frimayanti, N., Ikhtiarudin, I., Iskandar, B., Maulana, F., & Silalahi, N. T. (2019). Studi In Silico, Sintesis, dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Farmasi Sains & Klinis, 6*(3), 243-249. doi:https://doi.org/10.25077/jsfk.6.3.243-249.2019

Eriadi, A., Uthia, R., & Novita, R. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Farmasi Higea, 9*(2), 127-139. doi:http://dx.doi.org/10.52689/higea.v9i2.168

Fadhli, H., & Hasanah, S. b. U. (2019). Uji Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Kangkang Katup (*Bauhinia Semibifida* Roxb) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Scientia: Jurnal Farmasi dan Kesehatan, 9*(2), 141-145. doi:10.36434/SCIENTIA.V9I2.211

Fadhli, H., Nurdin, A. N., & Octaviani, M. (2019). Potensi Antioksidan dari Ekstrak Kulit Batang *Bauhinia semibifida* Roxb. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina, 4*(1), 77-87. doi:https://doi.org/10.36387/jiis.v4i1.257

Haryanti, S., Widayanti, E., & Widiyastuti, Y. (2017). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Air dan Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) pada beberapa Model Sel Kanker. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia, 10*(1), 1-9. doi:10.22435/toi.v10i1.6742.1-9

Juniarti, J., Osmeli, D., & Yuhernita, Y. (2009). Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dan Antioksidan (1, 1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl) Dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara, Sains, 13*(1), 50-54. doi:https://doi/org/10.7454/mss.v13i1.378

Marwati, M., Anggriani, A., Burhan, A., Awaluddin, A., Nur, S., Dharmayanti, R., Tiboyong, M. D. (2021). Antioxidant Activity and Cytotoxicity Against WiDR Cell and Vero Cell of The Karamunting (*Rhonomyrtus tomentosa* L.) Leaves Ethanol Extract. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 8*(3), 111-117. doi:https://doi.org/10.24198/ijpst.v8i3.26769

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica, 45*(5), 31-34. doi:10.1055/s-2007-971236

Norikura, T., Kojima-Yuasa, A., Shimizu, M., Huang, X., Xu, S., Kametani, S., Matsui-Yuasa, I. (2008). Mechanism of Growth Inhibitory Effect of *Blumea balsamifera* Extract in Hepatocellular Carcinoma. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 72*(5), 1183-1189. doi:https://doi.org/10.1271/bbb.70586

Ntungwe N, E., Dominguez-Martin, E. M., Roberto, A., Tavares, J., Isca, V., Pereira, P., Rijo, P. (2020). Artemia Species: An Important Tool to Screen General Toxicity Samples. *Current Pharmaceutical Design, 26*(24), 2892-2908. doi:10.2174/1381612826666200406083035

Pang, Y., Wang, D., Fan, Z., Chen, X., Yu, F., Hu, X., Yuan, L. (2014). *Blumea balsamifera*—A Phytochemical and Pharmacological Review. *Molecules, 19*(7), 9453-9477. doi:10.3390/molecules19079453

Rahmi, A., Afriani, T., Hevira, L., & Widiawati, W. (2021b). Uji Aktivitas Antioksidan dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC). *Jurnal Riset Kimia, 12*(2). doi:https://doi.org/10.25077/jrk.v12i2.383

Rahmi, A., Afriani, T., & Sari, L. P. (2021a). Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera*) Secara In Vivo terhadap Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi, 25*(1), 7-10. doi:https://doi.org/10.20956/mff.v25i1.11961

Rohmah, R. N., Ratnaningtyas, N. I., & Asnani, A. (2014). Kajian Toksisitas dari Tubuh Buah *Ganoderma lucidum* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Scripta Biologica, 1*(1), 30-32. doi:10.20884/1.sb.2014.1.1.22

Sumihe, G., Runtuwene, M. R. J., & Rorong, J. A. (2014). Analisis Fitokimia dan Penentuan Nilai LC50 Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains, 14*(2), 125-128. doi:https://doi.org/10.35799/jis.14.2.2014.6070

Susanty, A., Dachriyanus, D., Yanwirasti, Y., Wahyuni, F. S., Fadhli, H., & Aswan, P. A. (2018). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Daun Tampa Badak (*Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum) pada Kanker Kolon HTB-38. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis, 5*(2), 142-146. doi:https://doi.org/10.25077/jsfk.5.2.142-146.2018

Widhiantara, I. G., Permatasari, A. A. A. P., Siswanto, F. M., & Dewi, N. P. E. S. (2018). Ekstrak Daun Sembung (*Blumea balsamifera*) Memperbaiki Histologi Testis Tikus Wistar yang diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia, 5*(2), 111-118. doi:https://doi.org/10.29122/jbbi.v5i2.2868

Widiyastuti, Y., Sholikhah, I. Y. M., & Haryanti, S. (2019). Efek Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak, Buah Takokak, dan Umbi Bidara Upas Terhadap Sel Kanker Payudara Mcf-7. *Jurnal Kefarmasian Indonesia, 9*(2), 140-149. doi:https://doi.org/10.22435/jki.v9i2.1049

Zuraida, Z. (2018). Analisis Toksisitas Beberapa Tumbuhan Hutan dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan, 36*(3), 239-246. doi:https://doi.org/10.20886/jphh.2018.36.3.239-246

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 34-44
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Pigment screening, phytochemical test, and cytotoxicity testing of the ethanol extract of *Holothuria atra* sea cucumber from Lemukutan island waters

Skrining pigmen, uji fitokimia, dan sitotoksik ekstrak etanol teripang *Holothuria atra* dari perairan Pulau Lemukutan

Wenti Yuliana, Nora Idiawati, Dwi Imam Prayitno*

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia
**Corresponding author*: dprayitno@fmipa.untan.ac.id

Abstract

Background: *Holothuria atra* is a type of sea cucumber found in the waters of Lemukutan Island, West Kalimantan, which has economic and ecological benefits. Personal experience found the presence of a water-soluble pigment when isolating sea cucumbers, which was bright red, thus drawing attention. Research on the water-soluble pigment of the ethanol extract of *H. atra* from Lemukutan Island waters has not been carried out yet. Natural pigments in sea cucumbers have a specific role as part of secondary metabolite compounds with the potential of having antimicrobial, antifungal, anticancer, antitumor, antiviral, anticoagulant, and antioxidant activities.
Objective: This study aimed to determine the natural pigments, secondary metabolites, and cytotoxic compounds in the ethanolic extract of *H. atra*.
Methods: Samples of *H. atra were* extracted with 96% ethanol. The pigment analysis used a UV-Vis spectrophotometry while the secondary metabolites was tested by the phytochemical screening method, and the cytotoxicity testing involved the *Brine Shrimp Lethal Toxicity* (BSLT) method.
Results: The obtained optimum absorption was 230 nm, which indicated a melanin pigment. The phytochemical test on the ethanolic extract of *H. atra* found flavonoid, phenolic, alkaloid, saponin, and triterpenoid compounds. The cytotoxicity test based on LC50 was 6.985 ppm, indicating the extract was categorized as extremely toxic because it was <30 ppm.
Conclusion: The pigment in *H. atra* is melanin, the secondary metabolites consist of flavonoids, phenolics, alkaloids, saponins, and triterpenoids, and it has a highly toxic activity.
Keywords: *Holothuria atra*, melanin, phytochemical test, BSLT, cytotoxic

Intisari

Latar belakang: *Holothuria atra* adalah salah satu jenis teripang yang ditemukan di Perairan Pulau Lemukutan Kalimantan Barat, memiliki manfaat ekonomi maupun ekologi. Pengalaman saat pengambilan sampel dijumpai adanya pigmen larut air dari tempat sampel, berwarna merah cerah dan menarik perhatian. Penelitian tentang pigmen larut air pada ekstrak etanol *H. atra* dari perairan Pulau Lemukutan belum pernah dilakukan. Pigmen alami pada teripang memiliki peranan tertentu, sebagai bagian dari senyawa metabolit sekunder berpotensi sebagai antimikroba, antijamur, antikanker, antitumor, antivirus, antikoagulan dan antioksidan.
Tujuan: Penelitian ini bertujuan mengetahui pigmen alami, senyawa metabolit sekunder dan potensi sitotoksik pada ekstrak etanol *H. atra*.
Metode: Sampel *H. atra* diekstraksi dengan etanol 96%. Analisis pigmen menggunakan spektrofotometri UV-Vis, pengujian senyawa metabolit sekunder dengan metode skrining fitokimia dan uji sitotoksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethal Toxicity* (BSLT).
Hasil: Serapan optimum yang dihasilkan oleh ekstrak etanol adalah 230 nm yang merupakan pigmen melanin. Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol *H. atra* ditemukan senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan triterpenoid. Uji sitotoksik berdasarkan LC_{50} adalah 6,985 ppm menunjukkan ekstrak dengan kategori sangat toksik karena nilainya <30 ppm.

Kesimpulan: Pigmen pada *H.atra* yaitu melanin. Kadungan ekstrak etanol metabolit sekunder teridiri dari flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan triterpenoid serta memiliki aktivitas toksistas yang sangat toksik.
Kata kunci : *Holothuria atra*, melanin, uji fitokmia, BSLT, sitotoksik

1. Pendahuluan

Teripang adalah biota laut yang tersebar di perairan Indonesia mulai dari Barat hingga ke Timur. Salah satunya dapat ditemukan di perairan Pulau Lemukutan yang memiliki luas sekitar 1,236 ha (Ruliyansyah, 2016) terletak di provinsi Kalimantan Barat, dengan potensi teripang yang cukup tinggi (Firdaus *et al.*, 2015). Secara geografis, Pulau Lemukutan terletak di 0˚42'6,31" LU - 0˚ 48' 32,91 LU dan 108˚ 40' 55,08" BT - 108˚ 44' 25,04" (Rudianto *et al.*, 2020). Jenis teripang yang mudah ditemukan di perairan Pulau Lemukutan adalah *H. atra*. Teripang tersebut umumnya ditemukan di daerah perairan dangkal hingga ke perairan dalam, dan terdapat pada daerah terumbu karang, pantai berbatuan dan berlumpur (Satria *et al.*, 2014). Secara ekonomi teripang dimanfaatkan sebagai sumber makanan, bahan kosmetik dan obat-obatan dari berbagai penyakit (Handayani *et al.*, 2017), secara ekologi berperan penting dalam rantai makanan, yaitu sebagai penyumbang pakan bagi biota laut serta menyuburkan substrat (Lewerissa, 2014). Teripang *H. atra* memiliki komponen bioaktif yang berpotensi sebagai antijamur, antibakteri, antimalaria, antikoagulan, antikanker, antibakteri, antirematik, antivirus dan meningkatkan imunitas (Damanik *et al.*, 2019).

Fenomena ditemukannya warna merah pekat pada air hasil sampling *H. atra* diduga kuat disebabkan oleh pigmen alami. Xing *et al.* (2017) melaporkan pada beberapa jenis teripang ditemukan pigmen alami yang terdiri dari guanin, melanin, astaxanthin, b-karoten, dan lutein. Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol untuk mendapatkan hasil yang optimal, dikarenakan etanol merupakan pelarut yang polaritasnya mendekati air maka akan mampu menjawab fenomena pigmen larut dalam air sewaktu sampling. Selanjutnya, untuk menentukan arah ekplorasi ektrak etanol *H. atra*, dilakukan analisis toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini digunakan untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan sebagai skringing *bioassay* untuk penelitian bahan alam yang menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan percobaan (Kilungga *et al.*, 2019). Ekstrak etanol tersebut dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika nilai LC_{50}< 1000 μg/mL (Aras, 2013).

Penelitian mengenai skrining pigmen, uji fitokimia dan uji toksistasnya pada teripang *H. atra* dari perairan Pulau Lemukutan belum pernah dilakukan, sehingga hasil penelitian ini membantu menemukan bidang aplikasi yang tepat untuk ekplorasi *H. atra*. Oleh karenanya, perlu dilakukan

skrining jenis pigmen, analisis senyawa metabolit sekunder dengan uji fitokimia, uji toksisitas teripang pasir *H. atra* dari perairan Pulau Lemukutan dengan metode BSLT.

2. Metode

2.1. Deskripsi bahan dan teknik pengumpulan sampel

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, akuades, aseton, metanol, kertas saring, teripang pasir, etanol 96 %, larva *Artemia salina*, Magnesium (Mg), HCl pekat, FeCl 5 %, $FeCl_3$, HCl 2N, air panas, preaksi Liebermann-Burchard, preaksi Dragendorff, preaksi Wagner, dan Preaksi Meyer.

Sampel *H. atra* diperoleh dari perairan Teluk Cina Pulau Lemukutan, Kabupaten Bengkayang, Provinsi Kalimantan Barat. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil langsung dari perairan, lalu dimasukkan kedalam *coolbox* kemudian dibawa ke Laboratorium Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Tanjungpura Pontianak.

2.2. Preparasi sampel

Sampel teripang *H. atra* yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang segar. Sampel teripang dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dipisahkan dari jeroannya dengan cara membelahnya secara melintang lalu jeroannya dikeluarkan, kemudian dibersihkan kembali. Selanjutnya dipotong kecil-kecil dan di blender hingga halus.

2.3. Ekstraksi sampel

Ekstraksi sampel dilakukan untuk mengekstrak senyawa yang ada pada teripang *H. atra* dengan metode maserasi yang mengacu pada penelitian Umboh (2018). Sampel teripang *H. atra* ditimbang sebanyak 300 gr ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan sampel dan pelarut adalah 1:2. Proses ini dilakukan selama 3x24 jam dan disimpan di tempat yang tidak terkena matahari. Pelarut pada ekstrak sampel diganti selama 1x24 jam. Filtrat yang dihasilkan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 ℃ agar senyawa bioaktif pada sampel tidak rusak, hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental / pekat. Ekstrak kasar kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen } \% = \frac{\textbf{bobot ekstrak (g)}}{\textbf{bobot sampel (g)}} \text{ x } 100\%$$

2.4. Pembacaan serapan optimum pigmen

Pembacaan serapan optimum dari ekstrak etanol *H. atra* untuk menentukan pigmen alami dengan digunakan metode spektrofotmetri UV-Vis. Ekstrak teripang *H. atra* diambil sedikit dimasukan kedalam botol vial, lalu dilarutkan dengan air dan dihomogenkan. Ekstrak yang telah larut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 200-700 nm. Serapan optimum pigmen yang ditunjukkan di spektrofotomer UV-Vis kemudian dilakukan analisis dengan dicocokan berdasarkan literatur.

2.5. Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan senyawa bioaktif pada *H. atra*. Uji fitokimia terdiri dari penguji pada senyawa flavonoid, fenol saponin, alkaloid, tanin, dan steroid/triterpenoid (Harborne, 1987).

- Uji flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan Magnesium (Mg) sedikit. Kemudian ditambahkan HCl 5-10 tetes. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna orange (flavon), merah muda (flavonol), warna merah (2,3 dihidrioflavonol dan ungu (xanthone).
- Uji fenolik dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5-10 tetes $FeCl_3$ 5%. Hasil uji positif jika terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat.
- Uji saponin dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditembah air yang telah dipanaskan sebanyak 1 mL, kemudian dikocok hingga menghasilkan busa. Hasil uji positif jika busa tetap stabil setelah ditambahkan beberapa tetas HCl 2 N.
- Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan masing-masing preaksi Meyer, preaksi Dragendorff dan preaksi Wagner 5-10 tetes. Hasil uji positif jika terjadi perubahan warna menjadi putih kekuningan pada preaksi Meyer, merah pada preaksi Dragendorff, dan kecolakatan pada preaksi Wagner.
- Uji steroid/triterpenoid dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5-10 tetes preaksi Liebermann-Burchard. Hasil uji positif jika tebentuk warna hijau sampai biru menunjukkan steroid, sedangkan terbentuk warna merah menunjukkan adanya triterpenoid.

2.6. Uji sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan untuk menentukan kemampuan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada ekstrak etanol *H. atra* dalam menghambat pertumbuhan larva *A. salina* dengan metode BSLT. Uji sitotoksik pada mengacu Aras (2013), pada telur *A. salina* diambil sedikit lalu ditetaskan dalam gelas beker berisi air laut sekitar 250 mL yang telah disaring dengan kertas saring. Telur dalam wadah yang akan ditetaskan dibawah lampu dan dilengkapi dengan aerator. Setelah 48 jam telur *A. salina* akan menetas dan menjadi larva udang. Larva *A. salina* yang digunakan adalah larva yang telah berumur 2 hari. Pengujian ini dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Ekstrak *H. atra* ditimbang sebanyak 40 mg dan dilarutkan dengan air laut sebanyak 4 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 ppm. Larutan yang diperoleh dipipet masing-masing sebanyak 1000 **µ**L, 100 **µ**L, 10 **µ**L. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan air laut hingga volume 10 mL kemudian dihomogenkan, sehingga masing-masing larutan menjadi 1000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm, selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva udang *A. salina*. Kontrol yang digunakan sebagai pembanding dibuat dengan cara yang sama kecuali penambahan ekstrak. Air laut dimasukkan setengah kedalam botol vial, lalu dimasukkan 10 ekor larva *A. salina* kemudian tepatkan dengan air laut hingga volume 10 mL. Pengamatan kematian larva *A. salina* dilakukan setelah 24 jam.

$$\text{Kematian larva } A.\ salina = \frac{T-K}{10} \text{x } 100\ \%$$

Keterangan:
T = Jumlah larva uji mati
K = Jumlah larva kontrol yang mati

Selanjutnya data yang diperoleh dilakukan analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50}.

3. Hasil dan pembahasan

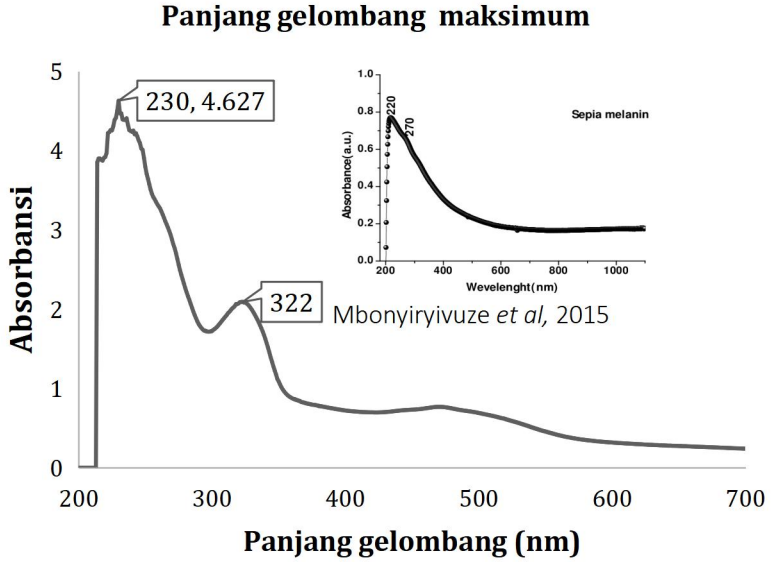
3.1 Ekstrak sampel

Proses maserasi *H. atra* dilakukan selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol adalah pelarut polar yang universal sehingga dapat menarik senyawa polar dan non polar, serta dapat bercampur dengan air. Kepolaran etanol dipengaruhi oleh adanya gugus hidroksil (–OH) yang bersifat polar dan gugus etil (CH_3CH_2) bersifat non polar (Yuliana, 2016). Selain itu, etanol memiliki sifat yang mudah menguap sehingga baik digunakan untuk mengekstrak senyawa bioaktif pada *H. atra* Selama proses ekstraksi pelarut diganti setiap hari dalam waktu 1x24 jam yang bertujuan supaya ekstrak yang dihasilkan lebih banyak. Selain itu, supaya kandungan senyawa metabolit sekunder pada *H. atra* terekstrak secara keseluruhan (Indarto *et al.*, 2019). Ekstrak *H. atra* yang dihasilkan adalah 7,261 g dengan rendemen yang dihasilkan yaitu 2,42% dan berwarna merah. Warna merah pada ekstrak etanol *H. atra* diduga karena adanya pigmen yang termasuk

senyawa triterpenoid yang terkandung di dalamnya (Damanik *et al.*, 2019). Oleh karena itu, untuk membuktikan dugaan tersebut dilakukan skrining spektrofotometri dan uji fitokimia.

3.2 Skrining pigmen

Penentuan serapan maksimum pigmen pada ekstrak etanol *H. atra* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 200-700 nm.



Gambar 1. Grafik serapan optimum melanin ekstrak *H. atra*

Berdasarkan Gambar 1, hasil *scanning* serapan optimum spektrofotometer UV-Vis pada ekstrak etanol *H. atra* dengan puncak serapan tertinggi berada pada panjang gelombang optimum 230 nm dengan absorbansi 4,627. Puncak serapan pada 230 nm adalah puncak serapan yang berada pada daerah UV, dengan absorbansi yang semakin meningkat pada panjang gelombang tersebut. Puncak dari serapan optimum yang dihasilkan adalah serapan optimum dari pigmen melanin. Hal ini, karena melanin memiliki serapan optimum pada daerah UV dengan panjang gelombang 200-300 nm (Madhusudhan *et al.*, 2014). Mbonyiryivuze *et al.* (2015) melaporkan spektra pada sepia melanin dengan puncak 220 nm dan puncak kedua 270 nm dalam pelarut *ultrapure water* dengan pH 10.93. Dari hasil pengamatan tersebut terdapat perbedaan puncak serapan dengan hasil yang didapat. Hal ini menandakan adanya pergeseran pola spektra dikarenakan perbedaan pelarut. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol, sesuai dengan penelitian Rahmalia *et al.* (2014) yang melaporkan perubahan spektra akibat interaksi antara variasi pelarut dan pigmen alami. Pigmen melanin yang ditemukan pada *H. atra* ada golongan polifenol dari senyawa penolik yang memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antibiotik dan antiviral (Putranti, 2014). Pigmen melanin yang ditemukan pada *H. atra* memiliki

sifat yang mudah larut dalam air. Pigmen melanin yang larut air memiliki potensi komersial untuk diaplikasikan dalam bidang bioteknologi (Madhusudhan *et al.*, 2014). Pigmen tersebut terutama dimanfaatkan dalam berbagai macam obat-obatan, melindungi kulit dari sinar radiasi UV dan sebagai bahan kimia, akan tetapi produksi melanin berlebihan dapat menyebabkan toksisitas melanosit seperti hiperpigmentasi (Putri *et al.*, 2018).

3.3 Uji fitokimia

Uji fitokimia pada ekstrak etanol *H. atra* terdiri dari uji flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, tanin steroid dan triterpenoid. Pengujian fitokimia dilakukan untuk menentukan senyawa metabolit sekunder pada *H. atra*.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia pada ekstrak *H. atra*

Uji fitokimia	Preaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Mg + HCl pekat	+	Merah
Fenolik	$FeCl_3$ 5%.	+	Jingga
Saponin	Air + HCl	+	Busa
Alkaloid	Wagner	+	kecoklatan
	Meyer	+	Putih kekuningan
	Dragendorff	+	Merah bata
Steroid	Liebermann-Burchard	-	Hijau kehitaman Tidak terbentuk warna hijau
Terpenoid	Liebermann-Burchard	+	Biru Merah

3.4 Uji sitotoksik

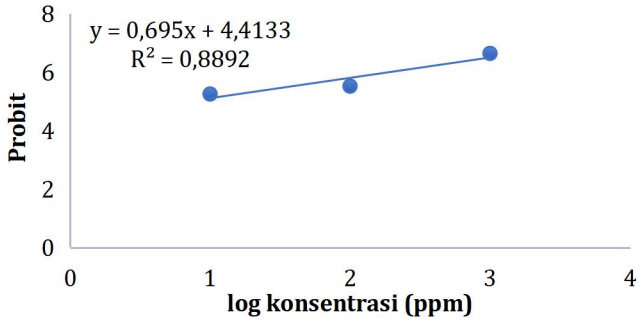
Uji sitotoksik pada ekstrak etanol *H. atra* dilakukan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode pengujian ini digunakan untuk mencari produk alam yang memiliki potensial sebagai anti kanker menggunakan hewan uji *A. salina* yang dikatakan toksik jika LC_{50}<1000 µg/mL (Aras, 2013). Berdasarkan Tabel 1. senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada ekatrak *H. atra* positif flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Halimatushadyah *et al.* (2018) dijelaskan bahwa ekstrak etanol *H. atra* mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Selain itu, Dhinakaran & Lipton (2014) juga menjelaskan ekstrak *H. atra* mengandung flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Senyawa flavonoid bermanfaat dalam melindungi struktur sel, antiinflamasi, meningkatkan efektifitas vitamin C, dan sebagai antibiotik (Ikalinus *et al.*, 2015). Senyawa fenolik memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antitrombotik, antivirus, antikanker dan antialergi

serta memiliki aktivitas antioksidan (Hasim *et al.*, 2019). Saponin pada *H. atra* dilaporkan memiliki potensial yang luas termasuk sitotoksik dan antikanker (Patantis, 2017). Alkaloid berperan sebagai aktivator yang kuat pada sel imum karena dapat menghancurkan virus, bakteri, jamur dan sel kanker (Pranoto *et al.*, 2012). Triterpenoid pada ekstrak *H. atra* kaya akan glikosida yang memiliki aktivitas antitumor dan antijamur dengan cara mengganggu membran sel dan menghambat sintesis protein jamur (Septiadi *et al.*, 2013).

Tabel 2. Kematian larva *A. salina*

No	Konsentrasi (ppm)	Replikasi		Jumlah kematian	Persentase (%)	Log (ppm)	Probit	LC_{50} (ppm)
		1	2					
1.	10	6	6	12	60	1	5,25	
2.	100	7	7	14	70	2	5,52	6,985
3.	1000	9	10	19	95	3	6,64	
4.	Kontrol	0	0	-	-	-	-	

Pada Tabel 2, menunjukkan bahwa kematian larva *A. salina* pada konsentrasi 10 ppm menghasilkan persentase kematian 60%, pada konsentrasi 100 ppm persentase menunjukkan kematian yaitu 70%, sedangkan pada konsentrasi 1000 ppm menghasilkan kematian 95%. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi yang digunakan mempengaruhi tingkat ketoksikan dari ekstrak. Kematian larva *A. salina* berkaitan dengan fungsi dari senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan flavonoid dalam ekstrak yang dapat menghambat daya makan larva. Senyawa-senyawa tersebut bertindak sebagai racun yang masuk ke dalam tubuh larva dengan mengganggu pencernaannya dan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva (Hafidloh, 2014). Teripang *H. atra* ketika terkena gesekan mengeluarkan cairan berwarna merah yang merupakan senyawa holothurin untuk pertahanan diri dalam kondisi terancam (Aziz, 1995; Chairunnisa, 2012). Oleh karena itu, senyawa holothurin pada teripang *H. atra* mempunyai sifat yang toksik. Senyawa holothurin pada *H. atra* berhubungan dengan adanya senyawa metabolit sekunder yaitu triterpenoid glikosida.



Gambar 2. Grafik hubungan probit dan log konsentrasi

Berdasarkan Gambar 2. grafik linear pada analisis probit vs log konsentrasi digunakan untuk menentukan LC_{50} dengan persamaan y = 0,695x + 4,4133 dan nilai korelasi yaitu R^2=0,8892. Persamaan y = 0,695x + 4,4133 pada grafik digunakan untuk menghitung nilai toksisitas dari ekstrak *H. atra* terhadap hewan uji. Hasil analisis probit dalam pengujian toksisitas pada ekstrak *H. atra* diperoleh LC_{50} yaitu 6,985 µg/mL termasuk ke dalam kategori sangat toksik, karena memiliki nilai LC_{50}<30 ppm. Senyawa holothurin pada *H. atra* menyebabkan aktivitas toksisitas yang dihasilkan sangat tinggi yang berkaitan dengan fungsi dari senyawa metabolit sekunder. Salah satunya berhubungan erat dengan senyawa saponin yang terdapat pada dinding tubuh dan organ dalam *H. atra* yang bersifat toksik. Ekstrak *H. atra* dengan LC_{50}<1000 µg/mL memiliki potensi aktivitas sitotoksik yang dapat dikembangkan sebagai bahan obat (Kilungga *et al.*, 2019). Selain itu, toksisitas ekstrak *H. atra* terhadap larva *A. salina* dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut yaitu berupa isolasi senyawa untuk mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai kandidat anti kanker sehingga dapat dikembangkan dalam penemuan obat anti kanker (Mangirang *et al.*, 2019). Halimatushadyah *et al.* (2018) melaporkan bahwa ekstrak etanol *H. atra* memiliki aktivitas sitotoksik yang mampu menghambat pertumbuhan pada sel kanker HeLa, WiDr dan T77D dan mampu menginduksi sel kanker tersebut.

4. Kesimpulan

Pigmen yang ditemukan pada ekstrak etanol *H. atra* yaitu pigmen melanin yang larut air dengan serapan optimum 230 nm. Ekstrak etanol *H. atra* mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari flavonoid, alkaloid, saponin, fenolik dan triterpenoid. Disamping itu, toksistas dari ektrak *atra* dengan metode BSLT dengan nilai LC_{50} adalah 6,985 ppm dan dikategorikan sangat toksik karena <30 ppm. Tingkat toksisitas yang tinggi dipengaruhi oleh adanya senyawa holothurin dari teripang *H. atra* yang bersifat toksik yang berhubungan dengan fungsi dari senyawa metabolit sekunder.

Daftar pustaka

Aras, T. R. (2013). *Uji Toksisitas Ekstrak Teripang Holothuria Scabra terhadap Artemia Salina.* (Skripsi), Illmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin Makassar.

Aziz, A. (1995). Beberapa Catatan tentang Teripang Bangsa Aspidochirotida. *Oseana, 20*(4), 11-23.

Chairunnisa, N. (2012). *Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang Holothuria Atra Jaeger Sebagai Pencegah Kanker Melalui Uji Mikronukleus Terhadap Sumsum Tulang Mencit (Mus Musculus L.) Jantan Galur DDY.* (Skripsi), Biologi. Universitas Indonesia Jakarta.

Damanik, S. R., Yulianto, B., & Subagiyo, S. (2019). Potensi Ekstrak Kasar Teripang Holothuria atra, Jaeger, 1833 (Holothuroidea: Holothuriidae) Dari Pulau Panjang, Jepara. *Journal of Marine Research, 8*(3), 262-268. doi:https://doi.org/10.14710/jmr.v8i3.25272

Dhinakaran, D. I., & Lipton, A. P. (2014). Bioactive Compounds from Holothuria Atra of Indian Ocean. *SpringerPlus, 3*, 673. doi:https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-673

Firdaus, R., Ardiningsih, P., & Arreneuz, S. (2015). Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Butoh Keling (Holothuria leucospilota) dari Pulau Lemukutan Terhadap Candida albicans. *Jurnal Kimia Khatulistiwa, 4*(4), 7-14.

Hafidloh, D. (2014). *Sitotoksik Ekstrak Daun Bunga Matahari (Helianthus Annus L) dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya.* (Skripsi), Kimia. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Halimatushadyah, E., Da'i, M., & Nursid, M. (2018). Sitotoksisitas dan Induksi Apoptosis Ekstrak Etanol Teripang Holothuria Atra Jaeger, 1833 pada Beberapa Sel Kanker. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 13*(2), 101-110. doi:10.15578/jpbkp.v13i2.536

Handayani, T., Sabariah, V., & Hambuako, R. R. (2017). Komposisi Spesies Teripang (Holothuroidea) di Perairan Kampung Kapisawar Distrik Meos Manswar Kabupaten Raja Ampat. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada, 19*(1), 45-51.

Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi Ke-2*. Bandung: ITB Press.

Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan, 8*(3), 86-93. doi:https://doi.org/10.17728/jatp.4201

Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (Moringa Oleifera). *Indonesia Medicus Veterinus, 4*(1), 71-79.

Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong terhadap Propionibacterium Acnes. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologis, 10*(1), 67-78. doi:https://doi.org/10.24042/biosfer.v10i1.4102

Kilungga, A., Chrystomo, L. Y., & Sujarta, P. (2019). Skrining Senyawa Kimia Ddan Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Teripang Kridou Bintik (Bohadschia Argus Jeager) Asal Pantai Harlem Kabupaten Jayapura, Papua. *Jurnal Biologi Papua, 11*(1), 12-17. doi:10.31957/jbp.633

Lewerissa, Y. A. (2014). Studi Ekologi Sumberdaya Teripang di Negeri Porto Pulau Saparua Maluku Tengah. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan, 1*(1), 32-42. doi:https://doi.org/10.30598/biopendixvol1issue1page32-42

Madhusudhan, D., Mazhari, B. B. Z., Dastager, S. G., & Agsar, D. (2014). Production and Cytotoxicity of Extracellular Insoluble and Droplets of Soluble Melanin by Streptomyces Lusitanus DMZ-3. *BioMed Research International, 2014*, 1-11. doi:https://doi.org/10.1155/2014/306895

Mangirang, F., Maarisit, W., Mongi, J., Lengkey, Y., & Tulandi, S. (2019). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pare Momordica charantia Linn Terhadap Larva Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Biofarmasetikal Tropis, 2*(1), 22-27.

Mbonyiryivuze, A., Omollo, I., Ngom, B. D., Mwakikunga, B., Dhlamini, S. M., Park, E., & Maaza, M. (2015). Natural Dye Sensitizer For Grätzel Cells: Sepia Melanin. *Physics Material Chemistry, 3*(1), 1-6.

Patantis, G. (2017). *Collagen-Stimulating Activity of Australian Sea Cucumber (Holothuria Atra) Extracts on Human Skin Fibroblast Cells.* (Thesis), Medical Biotechnology. Flinders University of South Australia

Pranoto, E. N., Ma'ruf, W. F., & Pringgenies, D. (2012). Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (Holothuria Scabra) terhadap Jamur Candida Albicans. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan, 1*(1), 18-25.

Putranti, R. I. (2014). *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum Duplicatum dan Turbinaria Ornata dari Jepara.* (Thesis), Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro Semarang.

Putri, W. E., Kurniawati, Y., & Djauhari, T. (2018). Depigmenting Agent Melanotoksik pada Pengobatan Melasma. *Medical Health Science Journal, 2*(2), 23-31. doi:https://doi.org/10.33086/mhsj.v2i2.584

Rahmalia, W., Fabre, J.-F., Usman, T., & Mouloungui, Z. (2014). Aprotic Solvents Effect on The UV–Visible Absorption Spectra of Bixin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Biomolecular Spectroscopy, 131*(2014), 455-460. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.03.119

Rudianto, A., Dewi, Y. S., & Burhanuddin, B. (2020). Ecotourism Development of Snorkeling and Diving Activity Toward Coral Reef Habitats in The Lemukutan Island of Bengkayang Regency. *Aquasains: Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan, 8*(2), 795-808. doi:http://dx.doi.org/10.23960/aqs.v8i2.p795-808

Ruliyansyah, A. (2016). Evaluasi Potensi Wisata Alam Pulau Lemukutan Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat. *Jurnal Arsitektur Lengkap, 2*(1), 51-61. doi:https://doi.org/10.24843/JAL.2016.v02.i01.p06

Satria, G. G. A., Sulardiono, B., & Purwanti, F. (2014). Kelimpahan Jenis Teripang Di Perairan Terbuka dan Perairan Tertutup Pulau Panjang Jepara, Jawa Tengah. *Management of Aquatic Resources Journal (Maquares), 3*(1), 108-115. doi:https://doi.org/10.14710/marj.v3i1.4427

Septiadi, T., Pringgenies, D., & Radjasa, O. K. (2013). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Keling (Holoturia Atra) dari Pantai Bandengan Jepara terhadap Jamur Candida Albicans. *Journal of Marine Research, 2*(2), 76-84. doi:https://doi.org/10.14710/jmr.v2i2.2355

Umboh, P. M. T. (2018). Aktivitas Antibakteri Fraksi Teripang Laut Holothuria Atra terhadap Bakteri Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus. *Jurnal Ilmiah Farmasi, 7*(4), 88-97. doi:https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.21429

Xing, L., Sun, L., Liu, S., Li, X., Miao, T., Zhang, L., & Yang, H. (2017). Comparison of Pigment Composition and Melanin Content among White, Light-Green, Dark-Green, And Purple Morphs of Sea Cucumber, Apostichopus Japonicus. *Acta Oceanologica Sinica, 36*(12), 45-51. doi:10.1007/s13131-017-1056-5

Yuliana, Y. (2016). Isolasi Senyawa Bioaktif Antibakteri pada Ekstrak Etanol Teriang Pasir (Holothuria Scabra) Di Kepulauan Selayar. *Al-Kimia, 5*(1), 71-80. doi:https://doi.org/10.24252/al-kimia.v5i1.2340

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 45-54
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Antioxidant potential of telang flowers (*Clitoria ternatea* L.) as an inhibitor of hyperpigmentation due to ultraviolet exposure

Potensi antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai penghambat hiperpigmentasi akibat paparan sinar ultraviolet

Ni Putu Anggun Cipta Rosalita Jelantik, Erna Cahyaningsih*

Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar, Bali, Indonesia
**Corresponding author*: ernafar08@gmail.com

Abstract

Background: Hyperpigmentation is a condition in which increased melanin production causes the formation of dark spots and lesions on the face. Antioxidants are used to reduce melanin production. Telang flowers have an antioxidant potential because it contains anthocyanins and other flavonoids. The potential of telang flowers is important to be recognized as a source of natural antioxidants that inhibit hyper-pigmentation on the skin due to UV exposure.
Objective: To learn about the potential of telang flowers (*Clitoria ternatea* L.) as an inhibitor of skin hyperpigmentation due to UV exposure
Methods: Data was collected using a systematic review method. The data was obtained from Google Scholar, ScienceDirect, and PubMed databases with the keywords "*Clitoria ternatea* L. antioxidant activity"; "phytochemical analysis of *Clitoria ternatea*"; "traditional use of *Clitoria ternatea* L"; "protective UV effect of *Clitoria ternatea* L.
Results: Flavonol glycosides are the most common flavonoids found in telang flowers. Flavonoids exhibit antioxidant properties by counteracting the formation of free radicals caused by UV radiation in the melanin biosynthetic pathway. In addition, flavonoids act as metal chelators on tyrosinase, thereby inactivating tyrosinase during melanogenesis. Telang flowers also have the ability to absorb UV-B and UV-C, playing a role in modulating the protective effect against UVR exposure on the skin.
Conclusion: Telang flowers have the potential as an inhibitor of skin hyper-pigmentation due to UV exposure.
Keywords: Antioxidant, telang flower, hyper-pigmentation, ultraviolet

Intisari

Latar belakang: Hiperpigmentasi merupakan keadaan bertambahnya produksi melanin yang menyebabkan terbentuknya lesi dan noda hitam pada wajah. Antioksidan diketahui dapat digunakan untuk mengurangi produksi melanin. Bunga telang memiliki potensi antioksidan, karena terdapat antosianin dan flavonoid lainnya. Potensi bunga telang penting diketahui sebagai sumber antioksidan alami penghambat hiperpigmentasi pada kulit akibat paparan sinar UV.
Tujuan: Untuk mempelajari mengenai potensi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai penghambat hiperpigmentasi kulit akibat paparan sinar UV
Metode: Pengumpulan data dilakukan menggunakan basis data Google Scholar, Science Direct dan PubMed dengan kata kunci *''Clitoria ternatea L. antioxidant activity''; ''phytochemical analysis of Clitoria ternatea''; ''traditional use of Clitoria ternatea L''; ''protective UV effect of Clitoria ternatea L*.
Hasil: Flavonol glikosida merupakan flavonoid yang paling banyak dijumpai pada bunga telang. Flavonoid menunjukkan sifat antioksidan dengan menangkal pembentukan radikal bebas yang disebabkan oleh radiasi UV pada jalur biosintesis melanin. Selain itu, flavonoid bertindak sebagai pengkelat logam pada tirosinase, sehingga menonaktifkan aktivitas tirosinase selama melanogenesis. Bunga telang juga memiliki kemampuan dalam menyerap UV-B dan UV-C yang berperan dalam memodulasi efek perlindungan terhadap paparan UVR pada kulit.

Kesimpulan: Bunga telang memiliki potensi sebagai penghambat hiperpigmentasi kulit akibat paparan sinar UV.
Kata kunci : Antioksidan, bunga telang, hiperpigmentasi, sinar ultraviolet.

1. Pendahuluan

Hiperpigmentasi adalah suatu keadaan bertambahnya jumlah melanin pada lapisan kulit yang mengakibatkan perubah warna kulit menjadi lebih gelap (Syarif, 2011). Hiperpigmentasi terutama terjadi pada area yang terkena paparan sinar matahari kronis yaitu wajah dan leher. Hiperpigmentasi secara umum dapat disebabkan oleh dua faktor yaitu faktor eksternal dan internal. Faktor internal penyebab hiperpigmentasi adalah faktor hormonal, genetik, ras dan hiperpigmentasi paska inflamasi. Sedangkan faktor eksternal penyebab hiperpigmentasi obat-obatan, kosmetika, bahan kimia dan paparan sinar matahari (Syarif, 2011). Sinar UV dapat memicu proses melanogenesis (pembentukan melanin) pada kulit. Biokatalis yang berperan dalam sintesis melanin adalah enzim tirosinase melalui jalur oksidatif (Park & Yaar, 2012).

Stres oksidatif merupakan hal yang berkontribusi dalam memfasilitasi terjadinya melanogenesis (pembentukan melanin), terutama yang disebabkan oleh paparan kulit terhadap radiasi ultraviolet (UVR) (Nahhas *et al.*, 2019). Bila produksi melanin berlebih dapat mengarah pada terjadinya penumpukkan melanin pada permukaan kulit (hiperpigmentasi) (Park & Yaar, 2012). Lesi dan noda pada wajah yang terbentuk karena hiperpigmentasi dapat dapat menimbulkan perasaan malu, cemas, dan depresi yang menyebabkan pengucilan sosial. Untuk mengurangi pembentukan melanin pada kulit diperlukan bahan untuk menghambat pembentukannya. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengurangi jumlah melanin pada kulit manusia adalah dengan menggunakan antioksidan (Gazali, 2018). Antioksidan dapat berperan sebagai ROS *scavenger* sehingga menghambat proses hiperpigmentasi (Bernatoniene *et al.*, 2011).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, mencegah atau menghilangkan kerusakan oksidatif pada molekul target (Gulcin, 2020). Kulit yang diberikan tambahan antioksidan telah terbukti memberikan perlindungan tambahan dari kerusakan akibat sinar matahari, memperlambat penuaan kulit, mengurangi peradangan dan pada akhirnya akan memperbaiki penampilan kulit (Uwa, 2017). Antioksidan di luar tubuh dapat diperoleh dalam bentuk sintesis dan alami. Namun, penggunaan antioksidan sintetik yang berlebihan memiliki efek toksik dan karsinogenik pada tubuh manusia (Puspitasari & Sumantri, 2019). Kekhawatiran akan adanya kemungkinan efek samping dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang perlu dikembangkan.

Efek toksisitas minimal pada kulit dan organ tubuh lain menjadikan kosmetik berbahan herbal mengalami peningkatan popularitas terutama pada kandungan antioksidan.

Salah satu tanaman yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Bunga telang memiliki potensi antioksidan, karena terdapat kandungan antosianin dan flavonoid lainnya (Chayaratanasin *et al.*, 2015; Miguel, 2011). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam bunga telang terbukti menunjukkan penghambatan radikal bebas yang signifikan dibanding standar asam galat dan kuarsetin (Lakshmi *et al.*, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Andriani & Murtisiwi (2020) menunjukkan bahwa pengujian ekstrak etanol 70% bunga telang dengan metode DPPH pada spektrofotometri UV-Vis, menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% bunga telang memiliki nilai IC_{50} sangat kuat yaitu sebesar 41,36 µg/mL. Hasil ini merupakan potensi besar pemanfaatan bunga telang sebagai sumber antioksidan sebagai penghambat hiperpigmentasi pada kulit akibat paparan sinar UV. Untuk mempelajari lebih dalam mengenai potensi bunga telang (*C. ternatea* L.) sebagai penghambat hiperpegmentasi kulit akibat paparan sinar UV maka dalam studi ini akan dibahas mengenai kandungan fitokimia, pemanfaatan tradisional dan potensi bunga telang sebagai antioksidan untuk hiperpigmentasi kulit.

2. Metode

Pengumpulan data menggunakan basis data Google Scholar, Science Direct dan PubMed. Sumber pustaka yang digunakan adalah berupa hasil penelitian yang telah dipublikasikan tahun 2011-2021 dalam jurnal nasional dan internasional. Pencarian sumber pustaka dilakukan dengan menggunakan kata kunci *"Clitoria ternatea L. antioxidant activity"; "phytochemical analysis of Clitoria ternatea"; "traditional use of Clitoria ternatea L"; "protective UV effect of Clitoria ternatea L".* Jurnal yang didapatkan diskrining kembali dengan kriteria inklusi yaitu 1) artikel menggunakan Bahasa Inggris atau Bahasa Indonesia, 2) jurnal tersedia dalam teks yang lengkap, 3) relevansi jurnal dengan topik artikel review, sedangkan kriteria eksklusi yaitu artikel tidak tersedia dalam teks yang lengkap (*full text*). Literatur yang sesuai kriteria dijabarkan dalam bentuk tabel kemudian dikaji lebih lanjut untuk menarik kesimpulan dengan cara membandingkan sumber pustaka yang berkaitan dengan fokus penelitian dari faktor-faktor yang bersifat umum untuk ditarik kesimpulan yang bersifat khusus.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Deskripsi tanaman

Tanaman telang umumnya dikenal sebagai *butterfly pea* merupakan tanaman yang termasuk dalam dari famili *Fabaceae* (Oguis *et al.*, 2019). Meskipun asal usulnya tidak diketahui secara jelas, tanaman telang kemungkinan besar berasal dari Asia. Tanaman ini memiliki daun majemuk dengan pertulangan menyirip ganjil, anak daun berjumlah 5-9 lembar, berwarna hijau dan bertangkai pendek, buah polong, berbentuk pipih memanjang berwarna hijau dan berwarna kecokelatan (Lijon *et al.*, 2017). Bunga tunggal dengan kelopak bunga berwarna hijau, sedangkan mahkota bunga berwarna biru nila dengan warna putih di tengahnya. Tanaman telang dikenali sebagai tumbuhan merambat yang sering ditemukan di pekarangan. Selain bunga ungu, bunga telang juga dapat ditemui dengan warna pink, biru muda dan putih (Budiasih, 2017).

Gambar 1. Bunga telang (*C. ternatea* L.)
Dokumen Pribadi

3.2 Penggunaan tradisional bunga telang (C. ternatea L.)

Dalam pengobatan Ayurveda tradisional, bunga telang telah digunakan selama berabad-abad (Lijon *et al.*, 2017). Telang merupakan herbal yang boleh dikatakan istimewa dalam pengobatan tradisional. Khasiat tanaman ini diakui di dalam pengobatan tradisional di berbagai peradaban, terutama Asia dan Amerika. Sejak tahun 1950-an tanaman telang telah menjadi obyek penelitian ilmiah, khususnya untuk mengkonfirmasi manfaatnya sebagaimana yang diklaim dalam pengobatan tradisional (Oguis *et al.*, 2019). Beberapa penggunaan tradisional bunga telang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Penggunaan tradisional bunga telang

No	Referensi	Kegunaan
1.	(Kaisoon *et al.*, 2011)	Mencerahkan kulit dan melindungi dari penuaan kulit.
2.	(Zingare *et al.*, 2013)	Pengobatan gigitan serangga, ular, kalajengking dan untuk pengobatan penyakit kulit di India.
3.	(Kshetrimayum, 2017)	Melancarkan menstruasi, mengobati klorosis dan masalah usus.
4.	(Lijon *et al.*, 2017)	Meremajakan otak, menyembuhkan gangguan neurologis, meningkatkan dan mempertahankan kecerdasan.
5.	(Harisha & Singh, 2019)	Peremajaan kulit dan digunakan agar kulit berkilau (*skin glow*).

3.3 Kandungan fitokimia bunga telang (C. ternatea L.)

Bunga telang adalah salah satu dari sumber tanaman dengan kadar polifenol relatif tinggi sehingga potensial memberikan manfaat kesehatan bagi manusia (Marpaung *et al.*, 2013; Rabeta & An Nabil, 2013). Flavonol glikosida merupakan flavonoid yang paling banyak dijumpai pada bunga telang, dan yang paling utama adalah kaempferol 3-glikosida yang kandungannya sekitar 87% total flavonol glikosida (Marpaung, 2020).

Tabel 2. Kandungan fitokimia bunga telang

No	Referensi	Pelarut	Kandungan fitokimia
1.	(Manjula *et al.*, 2013)	Metanol	Alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida dan resin
2.	(Nithianantham *et al.*, 2013)	Metanol	Flavonoid glikosida, seperti rutin, delfidin, kaempferol, quercetin dan malvidin
3.	(Kumar, R. *et al.*, 2017)	Aseton	Terpenoid, alkaloid, tanin, saponin, flavonoid dan steroid
4.	(Kumar, R. *et al.*, 2017)	Air	Terpenoid, tanin, flavonoid dan steroid
5.	(Kumar, M. & More, 2019)	Metanol	Alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid dan fenol
6.	(Cahyaningsih *et al.*, 2019)	Etanol 80%	Flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid
7.	(Nhut *et al.*, 2019)	Etanol 50%	Antosianin
8.	(Escher *et al.*, 2020)	Air	Fenol
9.	(Khumairoh *et al.*, 2020)	Etanol 96% dan etil asetat (1:10)	Flavonoid, tanin dan fenol
10.	(Purwaniati *et al.*, 2020)	Air	Flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid
11.	(De Morais *et al.*, 2020)	*Methanol acid solution* (80% metanol, 19% H_2O dan 1% *hydrochloric acid*, v/v/v)	Asam fenolik, stilbenes, flavanol, antosianin, flavonol dan flavanon

Senyawa fenolik merupakan senyawa bahan alam yang cukup luas penggunaannya saat ini. Salah satunya sebagai antioksidan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit degeneratif, kanker, penuaan dini dan gangguan sistem imun tubuh (Alfian & Susanti, 2012). Adapun kandungan fitokimia dari bunga telang dapat dilihat pada Tabel 2.

3.3 Potensi bunga telang sebagai antioksidan untuk hiperpigmentasi kulit

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengurangi jumlah melanin pada kulit manusia adalah dengan menggunakan antioksidan (Gazali, 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Huang *et al.* (2012) stres oksidatif terjadi karena pembentukan hidrogen peroksida (H_2O_2) serta spesies oksigen reaktif (ROS) yang berlebihan di kulit. Akibatnya, ROS yang terbentuk akan terakumulasi dan akan memicu proses melanogenesis dengan berinteraksi dengan enzim tirosinase. Oleh karena itu, antioksidan sangat penting dalam mengendalikan dan meminimalkan pembentukan radikal bebas di kulit dengan cara menetralisir serta merangsang degradasi radikal bebas. Bunga telang memiliki potensi antioksidan, karena terdapat kandungan antosianin dan flavonoid lainnya (Chayaratanasin *et al.*, 2015; Miguel, 2011). Adapun beberapa penelitian mengenai aktivitas antioksidan bunga Telang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan bunga telang

No	Refrensi	Pelarut	Metode	IC_{50} (ppm)	Aktivitas Antioksidan
1.	(Iamsaard *et al.*, 2014)	Air	DPPH	84,15	Kuat
2.	(Rajamanickam *et al.*, 2015)	Kloroform	DPPH	132	Sedang
3.	(Rajamanickam *et al.*, 2015)	Etil asetat	DPPH	107	Sedang
4.	(Rajamanickam *et al.*, 2015)	Metanol	DPPH	95	Kuat
5.	(Lakshan *et al.*, 2019)	Air	FRAP	34,71	Kuat
6.	(Andriani & Murtisiwi, 2020; Chayaratanasin *et al.*, 2015)	Etanol 70%	DPPH	41,36	Kuat
7.	(Chayaratanasin *et al.*, 2015)	Etanol 80%	DPPH	87,86	Kuat

Menurut Nishisgori (2015), sinar ultraviolet dapat mempengaruhi sel keratinosit dalam proses terbentuknya ROS (*Nitric Oxide* (NO)), serta sitokin dan enzim yang berperan dalam proses inflamasi. Selanjutnya radikal bebas serta sitokin inflamasi ini dapat merangsang keratinosit untuk melepaskan molekul sinyal seperti αMSH, prostaglandin E2, hormon adrenokortikotropin, dan endothelin-1 yang dapat meningkatkan aktivitas tirosinase. Aktivitas tirosinase yang meningkat dapat menyebabkan peningkatan produksi melanin. Antioksidan dapat menghambat hiperpigmentasi dengan menurunkan regulasi melanogenesis yang diinduksi UV sebelum transkripsi gen tirosinase lebih lanjut. Senyawa fitokimia yang paling umum yang menunjukkan sifat antioksidan dalam pencegahan melanogenesis adalah flavonoid, vitamin C dan vitamin E (Hanif *et al.*, 2020).

Flavonoid dikenal sebagai senyawa alami yang tergolong dalam senyawa polifenol. Senyawa ini dapat dikategorikan menjadi beberapa sub kelompok seperti flavonol, flavon, flavanon, isoflavon, katekin, antosianidin dan kalkon (Hanif *et al.*, 2020). Menurut (Kumar, S. & Pandey, 2013), flavonoid menunjukkan sifat antioksidan dengan menangkal pembentukan radikal bebas yang disebabkan oleh radiasi UV pada jalur biosintesis melanin. Selain itu, flavonoid bertindak sebagai pengkelat logam pada tirosinase, sehingga menonaktifkan aktivitas tirosinase selama melanogenesis (pembentukan melanin). Berbagai penelitian telah membuktikan potensi antioksidan yang signifikan dari senyawa bioaktif dari kelompok flavonoid. Penelitian yang dilakukan oleh Nair *et al.* (2015), menggunakan sel makrofag RAW 264,7, fraksi flavonol total dari ekstrak telang mampu menekan ROS yang dihasilkan oleh NADPH oksidase dan mitokondria, sedangkan fraksi antosianin menghambat produksi NO. Selain itu berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Zakaria *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak bunga telang memiliki kemampuan untuk menyerap UV-B dan UV-C yang berperan dalam memodulasi efek perlindungan terhadap UVR pada kulit. Hasil ini merupakan potensi besar pemanfaatan bunga telang sebagai sumber antioksidan penghambat hiperpigmentasi pada kulit akibat paparan sinar UV.

4. Kesimpulan

Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan bahwa bunga telang (*C. ternatea* L.) berpotensi digunakan sebagai sumber antioksidan penghambat hiperpigmentasi pada kulit akibat paparan sinar UV karena bunga telang memiliki kandungan senyawa fitokimia yang berperan sebagai antioksidan dan memiliki kemampuan dalam menyerap UV-B dan UV-C yang berperan dalam memodulasi efek perlindungan terhadap UVR pada kulit.

Daftar pustaka

Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (Hibiscus Sabdariffa Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana, 2*(1), 73-77. doi:http://dx.doi.org/10.12928/pharmaciana.v2i1.655

Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (Clitoria Ternatea L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia, 17*(1), 70-76. doi:https://doi.org/10.23917/pharmacon.v17i1.9321

Bernatoniene, J., Masteikova, R., Davalgiene, J., Peciura, R., Gauryliene, R., Bernatoniene, R., Chalupova, Z. (2011). Topical Application of Calendula Officinalis (L.): Formulation and Evaluation of Hydrophilic Cream with Antioxidant Activity. *Journal of Medicinal Plants Research, 5*(6), 868-877. doi:https://doi.org/10.5897/JMPR.9001247

Budiasih, K. S. (2017). *Kajian Potensi Farmakologis Bunga Telang (Clitoria Ternatea).* Paper presented at the Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY, Indonesia. *21*(4), 183-188.

Cahyaningsih, E., Yuda, P. E. S. K., & Santoso, P. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (Clitoria Ternatea L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Medicamento, 5*(1), 51-57. doi:https://doi.org/10.36733/medicamento.v5i1.851

Chayaratanasin, P., Barbieri, M. A., Suanpairintr, N., & Adisakwattana, S. (2015). Inhibitory Effect of Clitoria Ternatea Flower Petal Extract on Fructose-Induced Protein Glycation and Oxidation-Dependent Damages to Albumin in Vitro. *BMC Complementary Alternative Medicine, 15*(1), 1-9. doi:10.1186/s12906-015-0546-2

De Morais, J. S., Sant'Ana, A. S., Dantas, A. M., Silva, B. S., Lima, M. S., Borges, G. C., & Magnani, M. (2020). Antioxidant Activity and Bioaccessibility of Phenolic Compounds in White, Red, Blue, Purple, Yellow and Orange Edible Flowers Through A Simulated Intestinal Barrier. *Food Research International, 131*(2020), 109046. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109046

Escher, G. B., Marques, M. B., do Carmo, M. A. V., Azevedo, L., Furtado, M. M., Sant'Ana, A. S., Granato, D. (2020). Clitoria Ternatea L. Petal Bioactive Compounds Display Antioxidant, Antihemolytic and Antihypertensive Effects, Inhibit A-Amylase and A-Glucosidase Activities and Reduce Human LDL Cholesterol and DNA Induced Oxidation. *Food Research International, 128*(1), 108763. doi:10.1016/j.foodres.2019.108763

Gazali, M. (2018). Aktivitas Inhibitor Tirosinaserumput Laut Halimeda Spp dari Pesisir Aceh Barat. *Jurnal Perikanan Tropis, 5*(2), 149-159. doi:https://doi.org/10.35308/jpt.v5i2.1034

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview. *Archives of Toxicology, 94*(3), 651-715. doi:10.1007/s00204-020-02689-3

Hanif, N., Al-Shami, A. M. A., Khalid, K. A., & Hadi, H. A. (2020). Plant-Based Skin Lightening Agents: A Review. *The Journal of Phytopharmacology, 9*(1), 54-60. doi:10.31254/phyto.2020.9109

Harisha, C. B., & Singh, N. P. (2019). *Hand Book of Dry Land Medicinal Plants. Technical Bulletin No: 31*. Maharashtra (India): ICAR-National Institute of Abiotic Stress Management.

Huang, H.-C., Hsieh, W.-Y., Niu, Y.-L., & Chang, T.-M. (2012). Inhibition of Melanogenesis and Antioxidant Properties of Magnolia Grandiflora L. Flower Extract. *BMC Complementary Alternative Medicine, 12*(72), 1-9. doi:https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-72

Iamsaard, S., Burawat, J., Kanla, P., Arun, S., Sukhorum, W., Sripanidkulchai, B., Kondo, H. (2014). Antioxidant Activity and Protective Effect of Clitoria Ternatea Flower Extract on Testicular Damage Induced by Ketoconazole in Rats. *Journal of Zhejiang University-Science B, 15*(6), 548-555. doi:10.1631/jzus.B1300299

Kaisoon, O., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., & Meeso, N. (2011). Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Edible Flowers from Thailand. *Journal of Functional Foods, 3*(2), 88-99. doi:https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.03.002

Khumairoh, L., Susilo, J., & Laila Vifta, R. (2020). *Perbedaan Pelarut Etanol 96% dan Etil Asetat pada Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (Clitoria Ternatea L) terhadap Propionibacterium Acnes.* (Skripsi), Farmasi. Universitas Ngudi Waluyo

Kshetrimayum, B. (2017). *Medicinal Plants and its Therapeutic Uses*. In (pp. 117). doi:http://doc. doi. org/10./978-1-63278-074-4-075

Kumar, M., & More, D. R. (2019). Phytochemical Analysis and Bioactivity of Selected Medicinal Plant of Butterfly-Pea (Clitoria Ternatea L.) Used by Kolam Tribe Addjoing Region of Telangana and Maharashtra States. *The Pharma Innovation Journal, 8*(1), 417-421.

Kumar, R., Kumar, S., & Anju, V. S. (2017). Phytochemical and Antibacterial Activities of Crude Leaf and Root Extracts of Clitoria Ternatea Varieties (Fabaceae). *Journal of Pharmacognosy Phytochemistry, 6*(6), 1104-1108.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry And Biological Activities Of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal, 2013*, 1-16. doi:https://doi.org/10.1155/2013/162750

Lakshan, S. A. T., Jayanath, N. Y., Abeysekera, W. P. K. M., & Abeysekera, W. K. S. M. (2019). A Commercial Potential Blue Pea (Clitoria Ternatea L.) Flower Extract Incorporated Beverage Having Functional Properties. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2019*, 1-13. doi:10.1155/2019/2916914

Lakshmi, C. N. D., Raju, B. D. P., Madhavi, T., & Sushma, N. J. (2014). Identification of Bioactive Compounds by Ftir Analysis and in Vitro Antioxidant Activity of Clitoria Ternatea Leaf and Flower Extracts. *Indo American Journal of Pharmacy Research, 4*(9), 3894-3903.

Lijon, M. B., Meghla, N. S., Jahedi, E., Rahman, M. A., & Hossain, I. (2017). Phytochemistry and Pharmacological Activities of Clitoria Ternatea. *International Journal of Natural Social Sciences, 4*(1), 1-10.

Manjula, P., Mohan, C., Sreekanth, D., Keerthi, B., & Devi, B. P. (2013). Phytochemical Analysis of Clitoria Ternatea Linn., A Valuable Medicinal Plant. *J. Indian Bot. Soc., 92*(3&4), 173-178.

Marpaung, A. M. (2020). Tinjauan Manfaat Bunga Telang (Clitoria Ternatea L.) bagi Kesehatan Manusia. *Journal of Functional Food Nutraceutical, 1*(2), 47-69. doi:10.33555/jffn.v1i2.30

Marpaung, A. M., Andarwulan, N., & Prangdimurti, E. (2013). The Optimization of Anthocyanin Pigment Extraction from Butterfly Pea (Clitoria Ternatea L.) Petal using Response Surface Methodology. *Acta Horticulturae, 1011*(1011), 205-211. doi:10.17660/actahortic.2013.1011.24

Miguel, M. G. (2011). Anthocyanins: Antioxidant and/or Anti-Inflammatory Activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, 1*(6), 7-15.

Nahhas, A. F., Abdel-Malek, Z. A., Kohli, I., Braunberger, T. L., Lim, H. W., & Hamzavi, I. H. (2019). The Potential Role of Antioxidants in Mitigating Skin Hyperpigmentation Resulting from Ultraviolet and Visible Light-Induced Oxidative Stress. *Photodermatology, Photoimmunology Photomedicine, 35*(6), 420-428. doi:10.1111/phpp.12423. Epub 2018 Oct 15

Nair, V., Bang, W. Y., Schreckinger, E., Andarwulan, N., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Protective Role of Ternatin Anthocyanins and Quercetin Glycosides from Butterfly Pea (Clitoria Ternatea Leguminosae) Blue Flower Petals Against Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammation in Macrophage Cells. *Journal of Agricultural Food Chemistry, 63*(28), 6355-6365. doi:10.1021/acs.jafc.5b00928

Nhut, P., Nguyen, D. C., Lam, T. D., Van Thinh, P., Le, X. T., Vo, D.-V. N., Bach, L. G. (2019). *Extraction of Anthocyanins from Butterfly Pea (Clitoria Ternatea L. Flowers) in Southern Vietnam: Response Surface Modeling for Optimization of The Operation Conditions.* Paper presented at the IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. *542*(1), 012032.

Nishisgori, C. (2015). Current Concept of Photocarcinogenesis. *Photochemical Photobiological Sciences, 14*(9), 1713-1721. doi:10.1039/c5pp00185d

Nithianantham, K., Ping, K. Y., Latha, L. Y., Jothy, S. L., Darah, I., Chen, Y., Sasidharan, S. (2013). Evaluation of Hepatoprotective Effect of Methanolic Extract of Clitoria Ternatea (Linn.) Flower Against Acetaminophen-Induced Liver Damage. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 3*(4), 314-319. doi:10.1016/S2222-1808(13)60075-4

Oguis, G. K., Gilding, E. K., Jackson, M. A., & Craik, D. J. (2019). Butterfly Pea (Clitoria Ternatea), A Cyclotide-Bearing Plant with Applications in Agriculture and Medicine. *Frontiers in Plant Science, 10*, 645. doi:https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00645

Park, H.-Y., & Yaar, M. (2012). Chapter 72. Biology of Melanocytes. In: Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K. eds. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 8e. In. New York: McGraw Hill.

Purwaniati, P., Arif, A. R., & Yuliantini, A. (2020). Analisis Kadar Antosianin Total pada Sediaan Bunga Telang (Clitoria Ternatea) dengan Metode pH Diferensial Menggunakan Spektrofotometri Visible. *Jurnal Farmagazine, 7*(1), 18-23. doi:http://dx.doi.org/10.47653/farm.v7i1.157

Puspitasari, A. D., & Sumantri, S. (2019). Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (Citrus Sinensis) dan Jeruk Purut (Citrus Hystrix) Menggunakan Metode ABTS. *Majalah Farmasi dan Farmakologi, 23*(2), 48-51s. doi:https://doi.org/10.20956/mff.v23i2.6978

Rabeta, M. S., & An Nabil, Z. (2013). Total Phenolic Compounds and Scavenging Activity in Clitoria Ternatea and Vitex Negundo Linn. *International Food Research Journal, 20*(1), 495-500.

Rajamanickam, M., Kalaivanan, P., & Sivagnanam, I. (2015). Evaluation of Anti-oxidant and Antidiabetic Activity of Flower Extract of Clitoria ternatea L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5*(8), 131-138. doi:10.7324/JAPS.2015.50820

Syarif, M. W. (2011). *Dermatologi Kosmetik, Edisi ke-2*. Jakarta: FKUI.

Uwa, L. M. (2017). The Anti-Aging Efficacy of Antioxidants. *Current Trends Biomedical Engineering & Biosciences, 7*(4), 66-68. doi:10.19080/CTBEB.2017.07.555716.

Zakaria, N., Okello, E., Howes, M. J., Birch-Machin, M., & Bowman, A. (2018). In Vitro Protective Effects of An Aqueous Extract of Clitoria Ternatea L. Flower Against Hydrogen Peroxide-Induced Cytotoxicity and UV-Induced Mtdna Damage in Human Keratinocytes. *Phytotherapy Research, 32*(6), 1064-1072. doi:10.1002/ptr.6045

Zingare, M. L., Zingare, P. L., Dubey, A. K., & Ansari, M. A. (2013). Clitoria Ternatea (Aparajita): A Review of The Antioxidant, Antidiabetic and Hepatoprotective Potentials. *International Journal of Pharmacy Biological Sciences, 3*(1), 203-213.

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 55-63
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Combination of ethanolic extract on total flavonoid *Centella asiatica L.* leaves and *Imperata cylindrica L.* roots with UV-Vis spectrophotometric method

Anita Puspa Widiyana[1*], Sri Herlina[2], Didi Nurhadi Illian[3]

[1]Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia
[2]Department of Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia
[3]Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia
*_Corresponding author_: anitapuspaw@unisma.ac.id

Abstract

Background: Flavonoids are widely employed as phytomedicines and as secondary metabolites generated by plants, where they serve key roles in plant physiology. Antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antibacterial, antifungal, and antiviral activities are only a few of the potential biological effects of flavonoids. The discovery of medicinal plants containing flavonoid chemicals is potential as supportive and preventative treatment, notably for COVID-19 which has caused a pandemic in several countries, including Indonesia.
Objective: This study aimed to determine the total flavonoid content in the ethanolic extracts of *C. asiatica* leaves and *Imperata cylindrica* roots to find the potential of flavonoid-rich plants as an alternative source of COVID-19 treatment.
Methods: The ethanolic extracts from the combination of *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots (with five combination ratios) were tested for total flavonoid content using the UV-Vis Spectrophotometry method. The total flavonoid content of the extract combination was analyzed using a one-way ANOVA test.
Results: The total flavonoid contents of the combination of *C. asiatica* leaf and *I. cylindrica* root extracts at a ratio of 1:1, 2:3, 3:2, 4:1, and 1:4 were 45.88 ± 0.08, 42.14 ± 0.08, 40.52 ± 0.08, 66.28 ± 0.08, and 40.88 ± 0.13 mg/g EQ, respectively. The homogeneity with Levene's test obtained a *p*-value of 0.303. The one-way ANOVA exhibited the p-value of *F*-test statistics < 0.001.
Conclusion: The total flavonoid contents of ethanolic extracts from *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots are at a ratio of 4:1 > 1:1 > 2:3 > 1:4 > 3:2. The high total flavonoid content plays a role in increasing anti-inflammatory and immunomodulatory activities in COVID-19 patients.
Keywords: Total flavonoid content, *C. asiatica*, *I. cylindrica*, UV-Vis Spectrophotometry, COVID-19

1. Introduction

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) was first confirmed in Wuhan, People's Republic of China, and has caused a pandemic in various countries globally, including in Indonesia (Setiati & Azwar, 2020; Liskova *et al.*, 2021; Nguyen *et al.*, 2012; Saakre *et al.*, 2021; Solnier & Fladerer, 2021). Based on the data from WHO on July 28, 2021, the Government of Indonesia reported as many as 3,287,727 (47,791 new) confirmed cases of COVID-19 with details of 88,659 (1,824 new) deaths and 2,640,676 recovered cases originating from 34 provinces with 510 districts (WHO, 2021). Several long-standing drugs are generally used as antivirals such as favipiravir and ribavirin, anti-HIV protease inhibitors such as ritonavir and lopinavir, and anti-inflammatory agents such as tocilizumab or dexamethasone are used to treat COVID-19 (Mandal *et al.*, 2021). Besides the therapeutic options of antiviral drugs, natural plant products play a role in supportive and prophylactic care may be an option (Mandal *et al.*, 2021; Solnier & Fladerer, 2021).

Indonesia is one of the countries with tropical forests that are rich in various medicinal plants (Al Manar, 2018). *Centella asiatica* and *Imperata cylindrica* are plants that are commonly found in Indonesia. The leaves of *C. asiatica* are usually used as green vegetables and salads, while the roots of *I. cylindrica* are used as herbal drinks. One of the secondary metabolites content of *C. asiatica* and *I. cylindrica* is flavonoid compounds (Bhattacharya *et al.*, 2017; Suhendra *et al.*, 2019).

Flavonoids are responsible for plant's color, taste, and pharmacological activity as a secondary metabolite found naturally in plants (Liskova *et al.*, 2021; Sapiun *et al.*, 2020; Solnier & Fladerer, 2021). The structure of flavonoids consists of a diphenyl propane ring with two benzene cores joined by an oxygen-containing ring. Furthermore, they are bound in a pyran ring (Amić *et al.*, 2007; Sapiun *et al.*, 2020). The flavonoids in the body are antioxidant, anti-inflammatory, antiallergic, antihypertensive, anticancer, anti-asthma, anti-bronchitis, antihemorrhagic, antimutagenic, antineoplastic, hepatoprotective, and antiviral. The activity of flavonoids as an antiviral, especially against SARS and MERS coronaviruses is through the mechanism of inhibition of protease enzymes such as 3-chymotrypsin-like protease (3CLpro), papain-like protease (PLpro), and helicase by suppressing the activity of an angiotensin-converting enzyme (ACE), increasing the body immunity against viral infection, and suppressing the inflammatory process associated with COVID-19 infection (Liskova *et al.*, 2021; Solnier & Fladerer, 2021). Several types of flavonoids that play a role in COVID-19 include apigenin, luteolin, quercetin, amentoflavone quercetin, daidzein, puerarin, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, gallocatechin gallate herbactin, rifolin, and pectrininin (Jo *et al.*, 2020; Mrityunjaya *et al.*, 2020; Saakre *et al.*, 2021). Castilliferol and castillicetin are two types of flavonoids extracted from the complete *C. asiatica* plant. Using 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl radical solution, both demonstrated good antioxidant activity, with IC_{50} values of 23.10 and 13.30 µg/mL, respectively (Subban *et al.*, 2008). In addition, the ethyl acetate fraction extracted from *I. cylindrica* contains a high concentration of flavonol compounds (a type of flavonoid) (Khaerunnisa *et al.*, 2020).

The determination of flavonoid content in the combination of extracts of *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots were carried out by absorption of the sample in the ultraviolet-visible (UV-Vis) region because this technique is widely used with several advantages such as simplicity, low operating costs, and reliable results. Aluminum chloride ($AlCl_3$) was added to the sample, and its absorption was measured using a UV-Vis spectrophotometer to obtain the flavonoid spectrum (Fernandes *et al.*, 2012). The quantification of flavonoids after complexation with $AlCl_3$ showed satisfactory performance according to several studies. Several previous research had determined the flavonoid content of several medicinal plant species such as *Eugenia uniflora, Fibraurea*

choroleuca, Sargassum polycystum, Melicopelunu ankeda, Polygonum minus, Murraya koenigii, Eugenia polyantha, Amomum compactum, and *Sedum sarmentosum* using a UV-Vis spectrophotometric method (Chang & Othman, 2014; Chen *et al.*, 2010; Nurcholis *et al.*, 2021). The procedure allowed estimation of the total flavonoid content with a specificity of the majority of aglycones (free flavonoids and O-glycosylation), increases the analysis representativeness, and minimizes deviation possibility. In addition, the complex formed between flavonoid-Al exerts a bathochromic effect which plays a key role in the method (da Silva *et al.*, 2015). This research was conducted to determine the total flavonoid content of the combination of the ethanolic extracts of *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots.

2. Methods

2.1 Chemical reagents

The materials and reagents used included ethanol, aluminum chloride, sodium acetate, and standard quercetin. All chemicals were provided by Sigma Aldrich Corp. (USA). The *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots were collected from Balai Materia Medika in Batu, Malang, Indonesia.

2.2 Sample extraction

The dry powder of *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots were weighed as much as 50 g respectively and each put into a maceration vessel. A total of 250 mL of ethanol was added to each vessel, macerated overnight in a closed container, and protected from light. On the second day, the simplicia was filtered, and the pulp was added with 150 mL of ethanol and macerated overnight. The treatment on the third day was the same as the second day by adding 100 mL of ethanol. The extraction results were collected and evaporated using a rotary evaporator to obtain a viscous extract.

2.3 Determination of the maximum wavelength of quercetin

A standard solution of 20 ppm quercetin was pipetted 1.0 mL and put into a test tube. Then, 1.0 mL of 2% $AlCl_3$, 0.1 M CH_3COONa, and 2.0 mL of distilled water were added into the test tube. The solution was vortexed for 1 minute and incubated for 30 minutes. Absorption was measured in the wavelength range of 200–500 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The blanks used were a mixture of 1.0 mL of ethanol, 1.0 mL of 2% $AlCl_3$, 1.0 mL of 0.1 M CH_3COONa, and 2.0 mL of distilled water.

2.4 Calibration curve preparation

The quercetin standard was weighed at 10 mg. The powder was put into a 100.0 mL volumetric flask, and ethanol was added. The solution was sonicated for 2 minutes until dissolved,

and ethanol was added to mark the limit. The quercetin series solution was made in several concentrations, namely 10, 20, 30, 40, 50 ppm. Each concentration was pipetted at 1.0 mL, and 1.0 mL of 2% $AlCl_3$, 0.1 M CH_3COONa, and 2.0 mL of distilled water were added in a test tube. The solution was vortexed for 1 minute and incubated for 30 minutes. Then, the absorption was measured through data maximum wavelength range of 428.2 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The blanks used were a mixture of 1.0 mL of ethanol, 1.0 mL of 2% $AlCl_3$, 1.0 mL of 0.1 M CH_3COONa, and 2.0 mL of distilled water.

2.5 Determination of the total flavonoid content of the combination extract

Samples of the combination ethanol extract of *C. asiatica* leaves, and *I. cylindrica* roots were made in various ratios, including 1:1, 2:3, 3:2, 4:1, and 1:4. Each extract mixture with various ratios was made with a concentration of 0.05% b/v in ethanol solvent. Afterward, 1.0 mL of each solution was pipetted, and 1.0 mL of 2% $AlCl_3$, 0.1 M CH_3COONa, and 2.0 mL of distilled water were added in the test tube. The solution was vortexed for 1 minute and incubated for 30 minutes. The absorption was measured at a maximum wavelength range of 428.2 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The blanks used were a mixture of 1.0 mL of ethanol, 1.0 mL of 2% $AlCl_3$, 1.0 mL of 0.1 M CH_3COONa, and 2.0 mL of distilled water. The reading was repeated three times. The determination of total flavonoid content (TFC) was carried out based on the following formula:

$$\text{Flavonoid} = \frac{\mathbf{Y \times N \times V}}{\mathbf{W}}$$

Description: Y = flavonoid concentration from the standard curve equation (mg/g); N = value of dilution; V = volume of extraction (mL); W = weight of mixed powder (g)

3. Results and Discussion

Using the same solvent, namely ethanol, the percentage of *C. asiatica* leaves maceration was 21.4%, and *I. cylindrica* roots was 4.0%. Maceration was chosen because the process is simple and can be used for compounds that are unstable by heating. Plant cells undergo cell wall degradation by ethanol solvents which causes a release of flavonoid compounds. As a result, polar flavonoid compounds will be higher in the extraction (Suhendra *et al.*, 2019).

Determination of the maximum wavelength due to the reaction between a standard solution of quercetin and aluminum chloride obtained a value of 428.2 nm. The maximum wavelength was chosen because it provided the maximum absorption and was used to identify compounds qualitatively. Then, the maximum wavelength testing used quercetin compound. It was because quercetin is a flavonoid type that was discovered in 1930, had a ketone group located at carbon

number 4 (C-4), and had a hydroxyl group on carbon atom number 3 (C-3) or number 5 (C-5) (Mustapa *et al.*, 2019; Shah *et al.*, 2016).

A standard series solution of quercetin with concentrations of 0–50 ppm was measured at the maximum wavelength. The relationship between levels and absorbance was made in the linear regression line equation curve and resulted in the equation y = 0.015X + 0.001 with an R-squared value of 0.998 and a p-value < 0.001. The calibration curve is determined to obtain a relationship between the levels and the absorbance of the quercetin standard solution (Harron, 2013). The relationship was determined from the correlation coefficient parameter, which is expressed by the value of R-squared (da Silva *et al.*, 2015; Puspitasari & Wulandari, 2017). The R-squared value of the quercetin standard calibration curve was 0.998, which meant that the experimental data accuracy value of the calibration curve was 99.8%. R-squared values range from 0.95 to 1 indicating that the method is suitable, so it can be used to determine the total flavonoid content in the extract of *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots (Sapiun *et al.*, 2020).

The combination of the ethanolic extracts of *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots in various ratios were measured at a maximum wavelength of 428.2 nm. The total flavonoid content of the combination of *C. asiatica* leaf and *I. cylindrica* root extract at a ratio of 1:1, 2:3, 3:2, 4:1, and 1:4 was 45.88±0.08 mg/g EQ, 42.14±0.08 mg/g EQ, 40.52±0.08 mg/g EQ, 66.28±0.08 mg/g EQ, and 40.88±0.13 mg/g EQ, respectively. All test data for flavonoid totals can be seen in Figure 1.

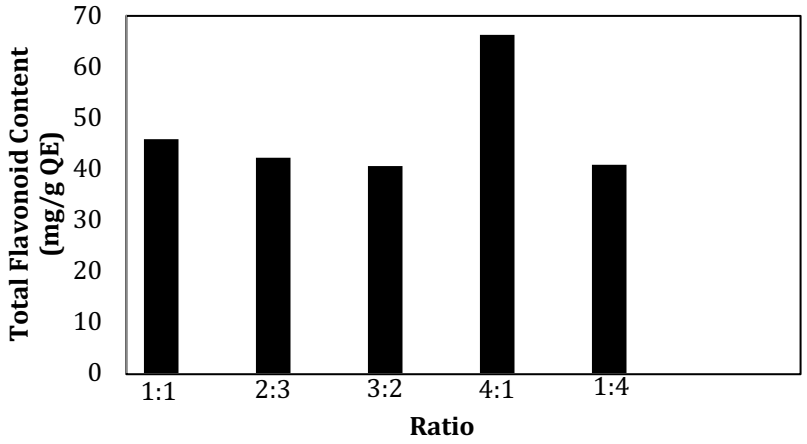


Figure 1. Total flavonoid content from combination *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots extract

The total flavonoid content in the extract combination was analyzed by one-way ANOVA statistical test. The homogeneity test with Levene's test obtained a p-value of 0.303. The results of one-way ANOVA test showed that the p-value of F-test statistics was 0.000. A one-way ANOVA test

is used to determine the variation between the five total flavonoid content of the extract combination. Based on the statistical analysis of homogeneity with Levene's test, a p-value of 0.303 > 0.05 was obtained, which means that the five-extract combinations have homogeneous variations in total flavonoid content data. Furthermore, from the results of one-way ANOVA test, it was known that the p-value of F-test statistics was 0.000 < 0.05, which indicates that the five total flavonoid contents of the combination have a significant difference. The total flavonoid content of the extract of *C. asiatica* leaves and *I. cylindrica* roots had a ratio of 4:1 > 1:1 > 2:3 > 1:4 > 3:2. Because the statistical value of the F test was significant at 5% alpha, further comparison tests were carried out between two ratios with a post-hoc multiple comparison test using the LSD method. Based on the results of statistical tests, it was known that the difference in the total flavonoid ratio between 4:1 and 1:1 was 20.16 mg/g EQ in 95% range, between 20.16–20.64 mg/g EQ, and significant at 5% alpha (p-value < 0.001). At a ratio of 4:1 and 2:3, the difference was 14.15 mg/g EQ in 95% range, between 23.91–24.39 mg/g EQ, and significant at 5% alpha (p-value = 0.000). At a ratio of 4:1 and 1:4, it was 25.40 mg/g EQ in 95% range, between 25.16–25.64 mg/g EQ, and significant at 5% alpha (p-value = 0.004). At a ratio of 4:1 and 3:2, the difference was 25.76 mg/g EQ in 95% range, between 25.52–25.52 mg/g EQ, and significant at 5% alpha (p-value < 0.001). These results reveal that the total flavonoid content at a ratio of 4:1 is better than at a ratio of 1:1, 2:3, 1:4, and 3:2 with the same significance value (<0.05).

Centella asiatica contain flavonoids such as kaempferol, quercetin, apigenin, rutin, and naringin (Vasavi *et al.*, 2016), whereas *I. cylindrica* contain tricin, caryatin, jaceidin, flavones, and maritimin (Jung & Shin, 2021). The role of flavonoids has been reported in previous studies as having antiviral and immunomodulatory activity against the coronavirus (Liskova *et al.*, 2021; Ngwa *et al.*, 2020; Zakaryan *et al.*, 2017). Flavonoids as an anti-inflammatory in COVID-19 can inhibit inflammation and reduce the production of pro-inflammatory cytokines. In addition, the increase in flavonoid content will increase immunity. Another mechanism of flavonoids involves inhibiting dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) and neutralization of 3CLpro against COVID-19 (Liskova *et al.*, 2021). The greater a plant extract's total flavonoid content, the greater its potential of anti-COVID-19 activity.

4. Conclusion

This research concludes that the total flavonoid content of *C. asiatica* leaf and *I. cylindrica* root extract is at a ratio of 4:1 > 1:1 > 2:3 > 1:4 > 3:2. This finding emphasizes *C. asiatica* and *I. cylindrica* as potential sources of flavonoids with the ability to combat COVID-19.

Acknowledgment

We would like to express our deepest gratitude to the Universitas Islam Malang, Indonesia, for providing research funding through the 2020 UNISMA Institutional Grant (HI-ma) program.

References

Al Manar, P. (2018). Pengetahuan Etnofarmakologi Tumbuhan Alang-Alang (*Imperata cylindrica* L.) Oleh Beberapa Masyarakat Etnik di Indonesia. *Talenta Conference Series: Trop. Med.* , *1*(3), 114-116. https://doi.org/https://doi.org/10.32734/tm.v1i3.273

Amić, D., Davidović-Amić, D., Beslo, D., Rastija, V., Lucić, B., & Trinajstić, N. (2007). SAR and QSAR of The Antioxidant Activity of Flavonoids. *Curr Med Chem*, *14*(7), 827-845. https://doi.org/10.2174/092986707780090954

Bhattacharya, R., Parmar, K., Itankar, P., & Prasad, D. S. (2017). Phytochemical and Pharmacological Evaluation of Organic and Non-organic Cultivated Nutritional Centella asiatica Collected after Different Time Intervals of Harvesting. *South African Journal of Botany*, *112*, 237-245. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.06.003

Chang, S. K., & Othman, A. (2014). Phenolics, Flavonoids Content and Antioxidant Activities of 4 Malaysian Herbal Plants. *International Food Research Journal*, *21*, 759-766.

Chen, Y., Wang, J., & Wan, D. (2010). Determination of Total Flavonoids in Three Sedum Crude Drugs by UV-Vis Spectrophotometry [Original Article]. *Pharmacognosy Magazine*, *6*(24), 259-263. https://doi.org/10.4103/0973-1296.71784

da Silva, L. A., Pezzini, B. R., & Soares, L. (2015). Spectrophotometric Determination of The Total Flavonoid Content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) Leaves. *Pharmacogn Mag*, *11*(41), 96-101. https://doi.org/10.4103/0973-1296.149721

Fernandes, A. J., Ferreira, M. R., Randau, K. P., de Souza, T. P., & Soares, L. A. (2012). Total Flavonoids Content in The Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpiniaceae). *ScientificWorldJournal*, *2012*, 923462. https://doi.org/10.1100/2012/923462

Harron, D. W. G. (2013). Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: the ICH Process. *The Textbook of Pharmaceutical Medicine 1994 (November 1996)*, 447–460. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781118532331.ch23

Jo, S., Kim, S., Shin, D. H., & Kim, M. S. (2020). Inhibition of SARS-CoV 3CL Protease by Flavonoids. *J Enzyme Inhib Med Chem*, *35*(1), 145-151. https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1690480

Jung, Y. K., & Shin, D. (2021). *Imperata cylindrica*: A Review of Phytochemistry, Pharmacology, and Industrial Applications. *Molecules*, *26*(5). https://doi.org/10.3390/molecules26051454

Khaerunnisa, S., Aminah, N. S., Kristanti, A. N., Kuswarini, S., Wungu, C. D. K., Soetjipto, S., & Suhartati, S. (2020). Isolation and Identification of A Flavonoid Compound and In Vivo Lipid-lowering Properties of *Imperata cylindrica*. *Biomedical reports*, *13*(5), 38-38. https://doi.org/10.3892/br.2020.1345

Liskova, A., Samec, M., Koklesova, L., Samuel, S. M., Zhai, K., Al-Ishaq, R. K., Abotaleb, M., Nosal, V., Kajo, K., Ashrafizadeh, M., Zarrabi, A., Brockmueller, A., Shakibaei, M., Sabaka, P., Mozos, I., Ullrich, D., Prosecky, R., La Rocca, G., Caprnda, M., Büsselberg, D., Rodrigo, L., Kruzliak, P., & Kubatka, P. (2021). Flavonoids Against the SARS-CoV-2 Induced Inflammatory Storm. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *138*, 111430-111430. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111430

Mandal, A., Jha, A. K., & Hazra, B. (2021). Plant Products as Inhibitors of Coronavirus 3CL Protease. *Frontiers in pharmacology*, *12*, 583387-583387. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.583387

Mrityunjaya, M., Pavithra, V., Neelam, R., Janhavi, P., Halami, P. M., & Ravindra, P. V. (2020). Immune-Boosting, Antioxidant and Anti-inflammatory Food Supplements Targeting Pathogenesis of COVID-19. *Front Immunol*, *11*, 570122. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.570122

Mustapa, M. A., Taupik, M., & Lalapa, A. R. (2019). Analisis Kadar Flavonoid Total menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis dalam Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* V.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, *1*(1), 21–27. https://doi.org/ https://doi.org/10.37311/jsscr.v1i1.2200

Nguyen, T. T., Woo, H. J., Kang, H. K., Nguyen, V. D., Kim, Y. M., Kim, D. W., Ahn, S. A., Xia, Y., & Kim, D. (2012). Flavonoid-mediated Inhibition of SARS Coronavirus 3C-like Protease Expressed in *Biotechnol Lett*, *34*(5), 831-838. https://doi.org/10.1007/s10529-011-0845-8

Ngwa, W., Kumar, R., Thompson, D., Lyerly, W., Moore, R., Reid, T.-E., Lowe, H., & Toyang, N. (2020). Potential of Flavonoid-Inspired Phytomedicines against COVID-19. *Molecules*, *25*(11), 2707. https://www.mdpi.com/1420-3049/25/11/2707

Nurcholis, W., Sya'bani Putri, D. N., Husnawati, H., Aisyah, S. I., & Priosoeryanto, B. P. (2021). Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Ethanol and Ethyl Acetate Extracts from Accessions of *Amomum compactum* Fruits. *Annals of Agricultural Sciences*, *66*(1), 58-62. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2021.04.001

Puspitasari, A. D., & Wulandari, R. L. (2017). Antioxidant Activity, Determination of Total Phenolic and Flavonoid Content of *Muntingia calabura* L. Extracts [Antioxidant, phenolic, flavonoid, Muntingia calabura]. *2017*, *7*(2), 12. https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i2.7104

Saakre, M., Mathew, D., & Ravisankar, V. (2021). Perspectives on Plant Flavonoid Quercetin-based Drugs for Novel SARS-CoV-2. *Beni Suef Univ J Basic Appl Sci*, *10*(1), 21. https://doi.org/10.1186/s43088-021-00107-w

Sapiun, Z., Pangalo, P., Wicita, P., & Daud, R. (2020). Determination of Total Flavonoid Levels of Ethanol Extract Sesewanua Leaf (Clerodendrum Fragrans Wild) with Maceration Method using UV-Vis Spectrofotometry. *Pharmacognosy Journal*, *12*, 356-360. https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.56

Setiati, S., & Azwar, M. K. (2020). COVID-19 and Indonesia. *Acta medica Indonesiana*, *52*(1), 84-89.

Shah, P. M., Vishnu Priya, V., & Gayathri, R. (2016). Quercetin – A Flavonoid: A Systematic Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *8*(8), 878–880.

Solnier, J., & Fladerer, J. P. (2021). Flavonoids: A Complementary Approach to Conventional Therapy of COVID-19? *Phytochem Rev*, *20*(4), 773-795. https://doi.org/10.1007/s11101-020-09720-6

Subban, R., Veerakumar, A., Manimaran, R., Hashim, K. M., & Balachandran, I. (2008). Two New Flavonoids from *Centella asiatica* (Linn.). *J Nat Med*, *62*(3), 369-373. https://doi.org/10.1007/s11418-008-0229-0

Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) pada Ekstraksi menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, *8*(1), 27. https://doi.org/https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i01.p04

Vasavi, H. S., Arun, A. B., & Rekha, P. D. (2016). Anti-quorum Sensing Activity of Flavonoid-Rich Fraction from *Centella asiatica* L. against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J Microbiol Immunol Infect*, *49*(1), 8-15. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.03.012

WHO. (2021). World Health Organization. *Journal of the American Medical Women's Association*, *9*(6), 192.

Zakaryan, H., Arabyan, E., Oo, A., & Zandi, K. (2017). Flavonoids: Promising Natural Compounds Against Viral Infections. *Arch Virol*, *162*(9), 2539-2551. https://doi.org/10.1007/s00705-017-3417-y

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 64-72
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Effects of N-acetylcysteine administration as a preventive therapy for contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention in the elderly

Efek pemberian N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan *contrast induced nephropathy* paska intervensi koroner perkutan pada lansia

Putu Rika Veryanti*, Gamaliel Agripa

Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, DKI Jakarta, Indonesia
**Corresponding author*: rika_veryanti@istn.ac.id

Abstract

Background: Contrast-induced nephropathy (CIN) is a common complication in patients undergoing percutaneous coronary intervention (PCI). The Elderly is one of the risk factors for CIN and increase mortality. N-acetylcysteine is recommended as preventive therapy for CIN post PCI due to its antioxidant activity. However, previous studies have shown that the effectiveness of n-acetylcysteine as preventive therapy for CIN is still inconsistent.

Objective: The aim of this study was to determine the effect of N-acetylcysteine as preventive therapy for CIN post PCI in the elderly.

Method: This study used a retrospective study design. Data collection was carried out at one General Hospital in Jakarta from January until March 2020. The medical records in the 2019 period were used for the population. We included an elderly patient who underwent PCI by purposive sampling technique and obtained 78 samples. Data were analyzed by paired t-test to determine the effect of N-acetylcysteine as preventive therapy for CIN post PCI in the elderly.

Results: The characteristic of elderly patients who underwent PCI were dominated by males (66.67%) with a GFR <60 mL/min/1.73m^2 (74.36%). About 92.31% of patients did not have CIN and only 7.69% of patients showed a significant acute renal impairment (LFG decreased > 20%). Overall, there was an increase in average GFR value (2.33±7.90) in elderly who underwent PCI after n-acetylcysteine administration (p=0.011).

Conclusion: N-acetylcysteine was effective in preventing the incidence of CIN post PCI in the elderly.

Keywords: N-acetylcysteine, preventive therapy, contrast-induced nephropathy (CIN), percutaneous coronary intervention (PCI), elderly

Intisari

Latar belakang: *Contrast Induced Nephropathy* (CIN) diketahui sebagai komplikasi yang banyak terjadi pada pasien yang menjalani intervensi koroner perkutan (IKP). Usia lanjut merupakan salah satu faktor resiko terjadinya CIN dan dapat meningkatkan mortalitas. N-asetilsistein direkomendasikan sebagai terapi pencegahan CIN pasca IKP karena dihubungkan dengan aktivitas antioksidannya. Namun dari berbagai penelitian terkait efektivitas N-asetilsistein untuk mencegah CIN masih beragam dan tidak konsisten.

Tujuan: Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN pasca IKP pada lansia.

Metode: Penelitian menggunakan rancangan studi retrospektif. Pengambilan data dilakukan di salah satu rumah sakit umum di Jakarta pada bulan Januari – Maret 2020. Sampel yang digunakan adalah data rekam medik pasien periode tahun 2019 yang menjalani IKP dan berusia lanjut. Pengambilan sampel menggunakan teknik *purposive sampling*, diperoleh 78 sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Data diolah dan dianalisis dengan uji-t berpasangan untuk mengetahui efek N-asestilsistein sebagai terapi pencegahan CIN pasca IKP pada lansia.

Hasil: Karakteristik pasien lansia yang menjalani IKP didominasi oleh laki-laki (66,67%) dengan nilai LFG <60 mL/min/1,73m^2 sebanyak 74,36%. Dari 78 pasien yang diberi terapi N-Asetilsistein, 92,31% diantaranya tidak mengalami CIN dan hanya 7,69% yang mengalami penurunan nilai LFG >20%. Secara keseluruhan, terjadi peningkatan rata-rata nilai LFG pada lansia yang menjalani IKP setelah pemberian N-asetilsistein sebesar 2,33±7,90 (p=0,011).
Kesimpulan: N-asetilsistein efektif dalam mencegah kejadian CIN pasca IKP pada lansia.
Kata kunci : N-asetilsistein, *contrast induced nephropathy* (CIN), intervensi koroner perkutan (IKP), lansia

1. Pendahuluan

Contrast Induced Nephrophaty (CIN) merupakan gangguan ginjal akut yang ditandai dengan peningkatan serum kreatinin ≥ 25% atau ≥ 0,5 mg/dL dalam 48-72 jam setelah pemberian media *contrast* (Anwar *et al.*, 2018; Hossain *et al.*, 2018). CIN diketahui sebagai penyebab ketiga gagal ginjal akut pada pasien yang dirawat di rumah sakit (Kovar *et al.*, 2013). Pasien yang menjalani intervensi koroner perkutan (IKP) beresiko mengalami komplikasi CIN. Kejadian CIN pada pasien paska IKP mencapai 26,4% dan meningkat hingga 40% pada pasien dengan faktor resiko tinggi, seperti lansia, pasien dengan gagal ginjal kronis, gagal jantung dan diabetes melitus (Parlindungan *et al.*, 2019; Pintaningrum, 2016).

Tingginya angka kejadian CIN pada pasien paska IKP dapat dipengaruhi oleh usia (Ruhimat *et al.*, 2017). Seiring bertambahnya usia maka kemampuan ginjal untuk menjalankan fungsinya juga akan menurun. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa terjadi perbedaan kejadian CIN pada pasien > 60 tahun dan < 60 tahun (p=0,004). Hal ini menunjukkan bahwa usia lanjut merupakan faktor resiko terjadinya CIN (Evola *et al.*, 2012). Penelitian serupa juga menunjukkan pasien yang lebih tua mengalami CIN lebih banyak dibandingkan dengan usia muda (p=0,013) dan sebanyak 10% diantaranya berusia ≥ 70 tahun (Anwar *et al.*, 2018).

Komplikasi CIN paska IKP pada lansia dapat menurunkan luaran klinis pasien, meningkatkan lama rawat dan biaya serta meningkatkan morbiditas dan mortalitas pasien (Parlindungan *et al.*, 2019). Tindakan pencegahan CIN perlu dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Salah satu upaya yang direkomendasikan adalah dengan pemberian N-asetilsistein dengan dosis 2x600 mg selama 2 hari (Xu *et al.*, 2016). N-asetilsistein diduga dapat mencegah CIN karena efek antioksidannya yang dapat berikatan dengan radikal oksigen serta perannya sebagai prekursor glutathion yang merupakan antioksidan endogen tubuh. N-asetilsistein juga diketahui dapat meningkatkan ekspresi vasodilator nitrit oksida (NO) sehingga meningkatkan aliran darah ke ginjal (Eskandarian *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya di berbagai negara, menunjukkan bahwa penggunaan N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN memberikan hasil yang tidak konsisten. Beberapa studi menyebutkan bahwa pemberian N-asetilsistein efektif untuk mencegah CIN namun sebagian studi menunjukkan hasil yang sebaliknya (Sun *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2016). Penelitian di RSCM menyebutkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian N-asetilsistein dengan CIN (p=0,486) (Simatupang *et al.*, 2017). Sementara penelitian lain menunjukkan hasil yaitu N-asetilsistein dapat menurunkan serum kreatinin dan angka kejadian CIN paska *angiography* secara signifikan (RR=0,78, CI 95%= 0,68-0,90, I^2 =37,3 %) (Xie *et al.*, 2021). Hasil penelitian yang tidak konsisten ini disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah perbedaan demografi/karakteristik pasien, dosis N-asetilsistein yang digunakan, kriteria inklusi serta kualitas dari penelitian (Xu *et al.*, 2016).

Inkonsistensi hasil penelitian yang ada serta minimnya data terkait efektivitas penggunaan N-asetilsistein untuk mencegah CIN di Indonesia menjadikan penelitian ini penting untuk dilakukan. Tujuan studi ini adalah untuk memberikan gambaran efek pemberian N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN paska IKP pada lansia. Hasil penelitian ini nantinya dapat dijadikan sebagai sumber informasi atau bukti ilmiah untuk penelitian selanjutnya.

2. Metode

2.1. Deskripsi bahan dan teknik pengumpulan sampel

Data dalam penelitian ini dikumpulkan melalui data sekunder yang diperoleh dari rekam medik pasien menggunakan teknik pengumpulan sampel *purposive sampling*. Sebanyak 78 data rekam medik yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dipilih sebagai sampel penelitian. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah pasien yang masuk dalam kategori lansia akhir ($\geq$ 55 tahun) menurut Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, menjalani IKP dan menerima terapi N-asetilsistein sebelum tindakan IKP. Sedangkan data rekam medik yang tidak lengkap, seperti tidak memuat data karakteristik pasien yang dibutuhkan, hasil pemeriksaan laboratorium (LFG) serta dosis pemberian N-asetilsistein dan kontras dieksklusi dari penelitian.

2.3. Penjelasan mengenai deskripsi jalannya penelitian

Penelitian ini dilakukan di salah satu rumah sakit umum di Jakarta dengan *ethical approval* Nomor: KET-811/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2-19 yang dikeluarkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pengambilan data dilakukan selama kurang lebih 3 bulan, dari bulan Januari

sampai Maret 2020. Data yang diperoleh selanjutnya diolah, dianalisis dan ditabulasi dalam bentuk tabel. Dalam proses analisis, digunakan uji-t berpasangan terhadap perubahan nilai LFG sebelum dan sesudah IKP untuk mengetahui efek N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN. Nilai $p<0,05$ menunjukkan adanya perubahan nilai LFG yang signifikan pada pasien. Perubahan nilai LFG yang dinyatakan dengan angka positif mengindikasikan terjadinya peningkatan LFG dan sebaliknya, untuk perubahan LFG dengan angka negatif menunjukkan terjadinya penurunan LFG. Pasien yang mengalami penurunan nilai LFG $\geq$20% dikatakan mengalami CIN paska IKP.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 *Karakteristik pasien lansia yang menjalani IKP dan mendapatkan N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN*

Pada penelitian ini, jumlah lansia yang manjalani IKP lebih banyak laki-laki dibandingkan perempuan (66,67% vs 33,33%). Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa lebih dari 60% pasien PJK yang menjalani IKP berjenis kelamin laki-laki (Dewi *et al.*, 2019; Hartanto *et al.*, 2018). Faktor pola hidup yang kurang sehat diduga menjadi penyebab tingginya pasien laki-laki yang menjalani IKP dibandingkan perempuan. Kebiasaan merokok, mengkonsumsi alkohol secara berlebih, faktor stress, obesitas, riwayat hipertensi serta dislipidemia dapat meningkatkan resiko terjadinya penyakit jantung koroner (Kemenkes_RI, 2019). Pasien berusia 55-64 tahun menempati urutan teratas dalam penelitian ini. Penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit kronis yang umunya menyerang lansia karena keadaan organ yang terus menurun akibat penuaan (PERKI, 2018). Penurunan fungsi organ tidak hanya terjadi pada jantung, namun juga dapat terjadi pada organ lainnya seperti ginjal, sehingga pasien lansia yang menjalani IKP dalam penelitian ini juga disertai dengan riwayat penyakit gagal ginjal kronis dengan LFG <60 mL/min/1,73m^2 (74,36%).

Selain faktor pasien, jumlah pemberian dan jenis kontras yang digunakan juga mempengaruhi tingkat kejadian CIN paska IKP. Pemberian medium kontras untuk pasien lansia dan atau gagal ginjal yang dinyatakan aman adalah medium kontras dengan osmolaritas rendah dan dengan jumlah pemberian < 100mL. Pemberian medium kontras >100 mL dapat meningkatkan resiko terjadinya CIN (Wijaya & Atmadja, 2016). Medium kontras yang diberikan pada pasien pada penelitian adalah iodixanol dengan dosis 100 mL (67,95%). Iodixanol merupakan senyawa hidrofilik nonionik dan memiliki osmolaritas yang mendekati osmolaritas darah (290 mOsm/L). Kedua sifat ini membuat iodixanol kurang toksik terhadap ginjal sehingga aman digunakan untuk pasien dengan

faktor resiko tinggi terhadap kejadian CIN (Wijaya & Atmadja, 2016). Karakteristik pasien yang menjalani IKP ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik pasien lansia yang menjalani IKP dan mendapatkan N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN

No.	Karakteristik Pasien	Frekuensi (n)	Persentase (%)
1	Jenis kelamin		
	Laki-laki	52	66,67
	Perempuan	26	33,33
	Total	78	100
2	Usia (tahun)		
	55-64	43	55,13
	65-74	25	32,05
	≥75	10	12,82
	Total	78	100
3	LFG (mL/min/1,73m^2)		
	> 60	20	25,64
	30-59	33	42,31
	15-29	15	19,23
	< 15	10	12,82
	Total	78	100
4	Kormobid GGK		
	Ya	58	74,36
	Tidak	20	25,64
	Total	78	100
5	Jumlah kontras (mL)		
	> 100	25	32,05
	100	53	67,95
	< 100	0	0
	Total	78	100

3.2 *Efek N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN paska IKP pada lansia*

Sebelum menjalani IKP, pasien diberi N-asetilsistein dengan dosis 2x600 mg dengan tujuan mencegah terjadinya CIN. Mekanisme kerja N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan terjadinya CIN masih belum diketahui dengan jelas. Beberapa studi menyebutkan bahwa efek pencegahan ini dimungkinkan oleh efek antioksidan N-asetilsistein yang mampu berikatan dengan radikal oksigen di dalam tubuh. Disamping itu, N-asetilsistein juga diketahui sebagai prekursor glutation yang merupakan antioksidan endogen. Lebih lanjut, N-asetilsistein dapat meningkatkan ekspresi dan efek NO dengan membentuk S-nitozotiole yang merupakan vasodilator kuat dan stabil sehingga

menurunkan vasokontriksi ginjal dan meningkatkan darah ke ginjal (Kovar *et al.*, 2013). Efek pemberian N-asetilsistein pada pasien lansia paska IKP dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Angka kejadian CIN paska IKP pada lansia

Kejadian CIN	Frekuensi (n)	Persentase (%)	Perubahan LFG (%)
+	6	7,69	-29,43±8,96
-	72	92,31	12,47±24,13
Total	78	100	

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada sebagian besar pasien yang menerima N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN sebelum tindakan IKP tidak mengalami CIN (92,31). Hanya 7,69% (6 pasien) yang mengalami penurunan LFG ≥ 20% dengan rata-rata penurunan 29,43%. Hasil ini sejalan dengan hasil studi di Palestina, yaitu sebanyak 93,34% pasien yang mendapatkan N-asetilsistein pada tindakan katerisasi jantung tidak mengalami CIN. N-asetilsistein signifikan dapat menurunkan kejadian CIN pada pasien ($p<0,05$) (Habib, *et.al*., 2016). Rendahnya kejadian CIN pada studi ini juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah faktor usia, nilai LFG, dan jenis serta jumlah kontras yang diberikan. Lebih dari 50% pasien belum berada pada rentang usia manula (> 65 tahun) sehingga kondisi ginjal masih relatif baik. Dalam studi diketahui bahwa sebanyak 25% pasien masih memiliki nilai LFG awal > 60 mL/menit/1,73 m^2, sehingga memiliki risiko mengalami CIN yang lebih kecil dibandingkan pasien dengan LFG < 60 mL/menit/1,73 m^2 (Sun *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2016). Pemberian kontras dengan osmolaritas rendah dengan jumlah ≤ 100 mL juga mengurangi risiko kejadian CIN (Anwar *et al.*, 2018). Pada studi ini pasien lansia yang menjalani IKP diberikan iodixanol yang merupakan kontras dengan osmolaritas rendah dengan jumlah pemberian 100 mL.

Hasil studi ini juga menunjukkan bahwa dari 6 pasien yang mengalami CIN, 4 diantaranya berjenis kelamin perempuan dan berusia ≥ 70 tahun. Kejadian CIN pada perempuan diduga berkaitan dengan hormon ovarian yang dapat memengaruhi *Renin-Angiotensin-Aldosdosteron-System* (RAAS) dan berdampak pada aliran darah ke ginjal (Xu *et al.*, 2016). Studi di Italia menunjukkan hasil yang sebaliknya, yaitu angka kejadian CIN pada laki-laki lebih banyak terjadi dibandingkan perempuan ($p<0,05$) (Evola *et al.*, 2012). Berdasarkan usia, sebagian besar studi membuktikan bahwa pada usia yang lebih tua memiliki resiko yang lebih tinggi mengalami CIN dibandingkan usia muda (Sun *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2016). Hal ini disebabkan oleh penurunan fungsi ginjal yang dialami pasien seiring bertambahnya usia. Tabel 2 menunjukkan bahwa N-asetilsistein dapat memberikan efek pencegahan terhadap kejadian CIN pada lansia yang menjalani IKP. Efek N-

asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN pasca IKP pada lansia juga didukung oleh data hasil penelitian pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan nilai LFG sebelum dan sesudah IKP dengan pemberian N-asetilsistein

Parameter	Awal	Akhir	Perubahan (Δ)	*p-value*
Rata-rata LFG	43,95±23,87	46,29±24,06	2,33±7,90	0,011*

***** *t-test*; p<0,05 = terjadi perubahan LFG yang signifikan

Tabel 3 menampilkan data rata-rata perubahan LFG awal dan akhir pasien lansia paska IKP. Data menunjukkan bahwa terjadi peningkatan nilai LFG pasien yang signifikan. Peningkatan nilai LFG pasien menunjukkan bahwa pemberian N-Asetilsistein pada pasien lansia yang menjalani IKP dapat mencegah CIN. Namun studi ini juga menunjukkan bahwa nilai simpangan baku (SD) perubahan LFG pasien lebih besar dari nilai rata-ratanya. Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat pasien yang mengalami penurunan nilai LFG. Gagal ginjal kronik pada pasien diduga sebagai faktor penyebab turunnya nilai LFG pasien setelah menjalani IKP. Keadaan gagal ginjal kronis tidak dapat mengembalikan fungsi ginjal menjadi normal seperti sediakala karena merupakan penyakit degeneratif, sehingga mempertahankan LFG agar tidak menurun merupakan upaya yang tepat dalam hal ini (Ashley & Dunleavy, 2018). Selain gagal ginjal kronik, fungsi jantung dan penggunaan jenis serta jumlah kontras juga dapat menurunkan nilai LFG pasien. Fungsi jantung dengan *Left Ventricular Ejection Fraction* (LVEF) < 40% dan penggunaan kontras > 100mL juga dapat menginduksi terjadinya CIN) paska *angiopraphy* secara signifikan (Anwar *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membandingkan risiko kejadian CIN pada kelompok pasien lansia yang mendapatkan terapi N-asetilsistein dengan kelompok kontrol (tidak mendapatkan N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN) serta faktor-faktor yang memengaruhinya.

3.3 *Keterbatasan penelitian*

Salah satu kelemahan dalam studi ini adalah tidak dilakukan observasi terhadap kelompok pasien lansia paska IKP yang tidak mendapatkan N-asetilsistein (kontrol). Hal ini karena sebagian besar lansia yang menjalani IKP diberikan N-asetilsistein sebagai terapi pencegahan CIN. Keterbatasan ini menyebabkan sulitnya mendapatkan jumlah sampel yang berimbang antara kelompok pasien yang mendapatkan N-Asetilsistein dan kelompok kontrol. Walaupun demikian, hasil studi ini dapat memberikan gambaran awal bahwa N-asetilsistein dapat mencegah kejadian CIN pada lansia yang menjalani IKP.

Adanya data pendukung lain seperti BUN, urinalisa dan urin *output* dapat digunakan untuk memantau keadaan fungsi ginjal pasien. Data tersebut dapat melengkapi hasil penelitian. Namun dalam penelitian ini, tidak semua data yang dibutuhkan tersedia pada rekam medis sehingga tidak dapat dianalisis. Selain itu, singkatnya waktu penelitian juga menjadi keterbatasan dalam penelitian ini. Untuk penelitian selanjutnya diharapkan dapat memonitoring dan mengevaluasi fungsi ginjal pasien paska IKP dengan parameter lainnya dan menggunakan sampel yang lebih besar dengan membandingkan kelompok pasien yang mendapatkan N-asetilsistein dengan kelompok kontrol.

4. Kesimpulan

N-asetilsistein efektif dalam mencegah kejadian *contrast induced nephropathy* pada lansia yang menjalani intervensi koroner perkutan. Sebagian besar pasien tidak mengalami kejadian *contrast induced nephropathy* dengan perubahan nilai LFG yang signifikan (p=0,011).

Ucapan terimakasih

Terimakasih kami ucapkan kepada LPPM Institut Sains dan Teknologi Nasional serta Instalasi PJT RS atas izin dan segala dukungan yang diberikan sehingga pelaksanaan penelitian serta penulisan artikel ini berjalan dengan lancar.

Daftar pustaka

Anwar, M. R., Hai, A. N. M. A., Debnath, D. K., Faraji, M. A. H., & Hasan, K. M. (2018). Incidence and Risk Factors of Contrast Induced Nephropathy in Patients Following Coronary Angiography. *Journal of Science Foundation*, *15*(1), 20-25. doi:10.3329/jsf.v15i1.34779

Ashley, C., & Dunleavy, A. (2018). *The Renal Drug Handbook: The Ultimate Prescribing Guide for Renal Practitioners* 5 ed., Boca Raton, London: CRC Press

Dewi, V. A., Musthafa, Z., & Bustamam, N. (2019). Analisis Komparatif Akses Vaskular terhadap Kejadian Hematoma Pasca Percutaneous Coronary Intervention dengan Pemasangan Stent pada Pasien Acute Coronary Syndrome di RSPAD Gatot Subroto. *Jurnal Profesi Medika : Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, *9*(1). doi:10.33533/jpm.v9i1.821

Eskandarian, R., Yarmohamadi, M., Zaker-Tavalae, M., Mirmohammadkhani, M., Biglari, M., Tamadon, M., & Jalali, T. (2018). The Standard Dose versus Double Dose of N-acetylcysteine to Prevent Contrast-Induced Nephropathy; A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Nephropathology*, *7*(3), 145-150. doi:10.15171/jnp.2018.33

Evola, S., Lunetta, M., Macaione, F., Fonte, G., Milana, G., Corrado, E., Bonura, F., Novo, G., Hoffmann, E., & Novo, S. (2012). Risk Factors for Contrast Induced Nephropathy: A Study among Italian Patients. *Indian Heart J*, *64*(5), 484-491. doi:10.1016/j.ihj.2012.07.007

Hartanto, E., Saleh, K., Alkatiri, A. H., & Kabo, P. (2018). Outcome Jangka Pendek Pasien Penyakit Jantung Koroner Multivessel Stabil Kandidat untuk Operasi Coronary Artery Bypass Grafting dengan Gambaran EKG Normal. *Indonesian Journal of Cardiology*, *39*(2). doi:10.30701/ijc.v39i2.634

Hossain, M. A., Costanzo, E., Cosentino, J., Patel, C., Qaisar, H., Singh, V., Khan, T., Cheng, J. S., Asif, A., & Vachharajani, T. J. (2018). Contrast-induced Nephropathy: Pathophysiology, Risk Factors, and Prevention. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, *29*(1), 1-9. doi:10.4103/1319-2442.225199

Habib, M., Alla, H., Amen, H. (2016). N-Acetylcysteine and/or Ascorbic Acid versus Placebo to Prevent Contrast-Induced Nephropathy in Patients Undergoing Elective Cardiac Catheterization: The NAPCIN Trial; A Single-Center, Prospective, Randomized Trial**.** *Saudi J Kidney Dis Transpl*, *27*(1), 55-61.

Kemenkes_RI. (2019). *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI

Kovar, F., Knazeje, M., & Mokan, M. C. (2013). What Should We Know About Prevented, Diagnostic, and Interventional Therapy in Coronary Artery Disease. In *Contrast-Induced Nephropathy: Risk Factors, Clinical Implication, Diagnostics Approach, Prevention*. IntechOpen. doi:10.5772/54036

Parlindungan, H., Hasan, R., Andra, C., Akbar, N., Nasution, A., Hasan, H., Safri, Z., Lubis, A., & Napitupulu, B. (2019). CHA2DS2-VAS-HSF Score as a Predictor for Contrast- Induced Nephropathy in Acute Coronary Syndrome Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. *Indonesian Journal of Cardiology*, *39*(2). doi:10.30701/ijc.v39i2.766

PERKI. (2018). *Pedoman Tata Laksana Sindrom Koroner Akut* (4 ed.) https://inaheart.org/wp-content/uploads/2021/07/Buku-ACS-2018.pdf

Pintaningrum, Y. (2016). Komplikasi Intervensi Koroner Perkutan. *Jurnal Kedokteran*, *5*(4). doi:10.29303/jku.v5i4.9

Ruhimat, U., Kuntara, A., & Togatorop, M. R. (2017). Pengaruh Puasa terhadap Kejadian Contrast-Media Induced Nephropathy (CIN) pada Pemeriksaan CT-Scan Setelah Pemberian Kontras Intravena. *Majalah Kedokteran Bandung*, *49*(1), 55–60. doi:10.15395/mkb.v49n1.988

Simatupang, L., Susalit, E., & Wijaya, I. (2017). Peran Kombinasi Hidrasi dan N-Acetyl Cysteine terhadap Nefropati akibat Kontras 48 Jam Pasca Percutaneous Coronary Intervention pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik Stadium 3. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, *3*(3), 125. doi:10.7454/jpdi.v3i3.22

Sun, Z., Fu, Q., Cao, L., Jin, W., Cheng, L., & Li, Z. (2013). Intravenous N-acetylcysteine for Prevention of Contrast-Induced Nephropathy: A Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *PLoS One*, *8*(1), e55124. doi:10.1371/journal.pone.0055124

Wijaya, A., & Atmadja, B. (2016). Identifikasi Risiko dan Pencegahan Terhadap Nefropati Akibat Kontras. *Jurnal Radiologi Indonesia*, *2*, 52-58. doi:10.33748/jradidn.v2i1.50

Xie, W., Liang, X., Lin, Z., Liu, M., & Ling, Z. (2021). Latest Clinical Evidence About Effect of Acetylcysteine on Preventing Contrast-Induced Nephropathy in Patients Undergoing Angiography: A Meta-Analysis. *Angiology*, *72*(2), 105-121. doi:10.1177/0003319720950162

Xu, R., Tao, A., Bai, Y., Deng, Y., & Chen, G. (2016). Effectiveness of N-Acetylcysteine for the Prevention of Contrast-Induced Nephropathy: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc*, *5*(9). doi:10.1161/jaha.116.003968

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 73-87
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

The influencing factors in knowledge of DAGUSIBU drug management in a rural area

Faktor-faktor yang memengaruhi tingkat pengetahuan DAGUSIBU pada masyarakat desa

Yulianto, Mega Alfiana, Vitarani D.A Ningrum*

Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta
**Corresponding author*: vitarani.ningrum@uii.ac.id

Abstract
Background: As RISKESDAS findings indicate that most families obtain drugs from prescription or self-medication. A good understanding of drug management is needed to minimize the risks of inappropriate drug use, counterfeit drugs, and other negative impacts. GKSO (The Family Drug Awareness) with the DAGUSIBU slogan (Obtain, Use, Store, Dispose) is an Indonesian Pharmacist Association's program to raise awareness of exemplary behavior toward family drug management.
Objective: This study analyzed the factors influencing DAGUSIBU knowledge among the people in Sekarbagus Village of Lamongan Regency.
Methods: A cross-sectional survey study was conducted from March-May 2021 with the levels of DAGUSIBU knowledge assessed using a validated questionnaire. Data analysis used the chi-square in SPSS 21.
Results: The results from 113 respondents indicated that the majority of the community had poor knowledge of using and disposing of medications with 57.52% and 87.61%, respectively. Compared to other knowledge, storing medications had the largest proportion (14,16%). There were no respondents with good knowledge of obtaining medications. This study also found that educational level and types of occupations correlated with levels of knowledge ($p < 0.05$).
Conclusion: With more than a third of the population having poor knowledge, pharmacists are expected to educate the community to improve their knowledge and good practice of DAGUSIBU.
Keywords: DAGUSIBU, knowledge, village community, influencing factors

Intisari
Latar belakang: Seiring dengan hasil RISKESDAS terkait mayoritas keluarga memiliki persediaan obat yang diperoleh melalui peresepan maupun layanan swamedikasi. Pemahaman yang baik tentang pengelolaan obat diperlukan untuk meminimalkan risiko ketidaktepatan penggunaan, pemalsuan obat, dan dampak negatif lainnya. Gerakan Keluarga Sadar Obat (GKSO) dengan slogan DAGUSIBU (Dapatkan, Gunakan, Simpan, Buang obat) merupakan program Ikatan Apoteker Indonesia untuk meningkatkan kesadaran berprilaku benar tentang pengelolaan obat keluarga.
Tujuan: Penelitian ini menganalisis faktor-faktor yang memengaruhi tingkat pengetahuan masyarakat desa Sekarbagus Kecamatan Sugio Kabupaten Lamongan tentang DAGUSIBU.
Metode: Penelitian berdesain *cross-sectional survey* dilakukan selama bulan Maret-Mei 2021 dengan penilaian tingkat pengetahuan DAGUSIBU menggunakan kuesioner yang telah divalidasi. Analisis data menggunakan uji *chi-square* dengan SPSS versi 21.
Hasil: Hasil penelitian pada 113 responden menunjukkan masyarakat berpengetahuan rendah mayoritas pada aspek dapatkan dan buang obat yakni masing-masing sebanyak 57,52% dan 87,61%, berturutan. Dibandingkan lainnya, pengetahuan simpan obat menunjukkan proporsi tertinggi berpengetahuan baik (14,16%). Tidak ditemukan responden dengan pengetahuan kategori baik pada aspek dapatkan. Studi ini juga menemukan tingkat pendidikan dan jenis pekerjaan berkorelasi dengan tingkat pengetahuan masyarakat ($p < 0,05$).
Kesimpulan: Temuan masyarakat berpengetahuan kurang pada semua aspek DAGUSIBU sebanyak lebih dari sepertiga populasi menghendaki edukasi apoteker untuk meningkatkan pengetahuan dan kesadaran praktek pengelolaan obat di masyarakat pedesaan.

Kata Kunci: DAGUSIBU, pengetahuan, masyarakat desa, faktor yang memengaruhi

1. Pendahuluan

Hingga saat ini obat menjadi mayoritas pilihan terapi baik sebagai upaya promotif, preventif, maupun kuratif. Akses obat kategori *Over the Counter* (OTC) yang dapat diperoleh bukan hanya di apotek, namun juga toko obat, dan gerai lainnya menjadi salah satu penyebab tingginya penyimpanan obat di rumah tangga (RT) pada masyarakat Indonesia. Temuan berdasarkan RISKESDAS 2013 menunjukkan lebih dari sepertiga populasi (35,2%) menyimpan obat di rumah dengan proporsi tertinggi ada di propinsi DKI Jakarta (56,4%) yang merupakan kota metropolitan. Sementara itu, obat keras dan antibiotika merupakan golongan obat terbanyak yang diperoleh tanpa resep dokter dengan jenis obat mayoritas merupakan obat sisa dari peresepan (47%). Temuan yang lebih tinggi (lebih dari 80%) ditunjukkan pada penelitian terbaru berbasis perkotaan di Indonesia (Gitawati, 2014; Insani *et al.*, 2020; Savira *et al.*, 2020). Hal tersebut berpotensi menimbulkan permasalahan penggunaan obat hingga dampak negatif yang berkaitan dengan kesehatan lingkungan akibat pembuangan obat yang tidak tepat. Gerakan Keluarga Sadar Obat (GKSO) dengan slogan DAGUSIBU (Dapatkan, Gunakan, Simpan, Buang obat) merupakan program yang dirancang oleh Ikatan Apoteker Indonesia untuk meningkatkan kesadaran berprilaku yang benar tentang pengelolaan obat keluarga sehingga permasalahan-permasalahan tersebut dapat dihindari.

Telah banyak penelitian berbasis komunitas pada beberapa kota di negara lain terkait dengan pengelolaan obat di rumah. Sebanyak sepertiga hingga separuh RT menyimpan obat baik obat sisa peresepan, masih digunakan maupun obat untuk penggunaan selanjutnya. Mayoritas survey tersebut berfokus pada penyimpanan dan pembuangan obat yang tidak lagi digunakan maupun telah kadaluarsa dengan dua kategori obat terbanyak adalah antibiotika dan obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS). Terkait tingkat pengetahuan baik dalam pengelolaan obat masih dalam proporsi yang sebanding antar kelompok yang dibandingkan, namun mayoritas menunjukkan praktek penyimpanan dan pembuangan obat yang belum sesuai (Bashaar *et al.*, 2017; Kahsay *et al.*, 2020; Ocan *et al.*, 2014; Shobiye *et al.*, 2021; Teni *et al.*, 2017). Sementara itu, survey terkait pengetahuan dan praktek pengelolaan obat di RT juga telah dilakukan pada beberapa studi di Indonesia dengan proporsi RT yang menyimpan obat di rumah lebih dari 80%, melebihi hasil RISKESDAS 2013. Studi di Jakarta Utara dan Bandung menunjukkan mayoritas responden menyimpan 1-5 obat di rumah dengan kategori obat terbanyak berupa OAINS dan cara mendapatkan obat mayoritas tanpa resep dokter (Gitawati, 2014; Insani *et al.*, 2020). Bersama studi lainnya juga menemukan sebagian besar praktek pembuangan obat yang tidak digunakan maupun kadaluarsa dengan membuangnya bersama sampah RT (Insani *et al.*, 2020; Savira *et al.*, 2020). Demikian pula hasil kajian sistematis dan meta analisis dari survey RT di

perkotaan menunjukkan antiinfeksi sistemik dan obat sistem saraf pusat merupakan kategori terbanyak obat yang disimpan di rumah dengan jalur pembuangan terbanyak yakni ke tempat sampah (Jafarzadeh *et al.*, 2021). Secara umum, studi yang telah dilakukan di perkotaan menemukan tingkat penyimpanan obat di RT yang relatif tinggi namun dengan tingkat pengetahuan dan praktek khususnya penyimpanan dan pembuangan obat yang rendah. Meski telah banyak studi yang dilakukan, hanya 1 studi penilaian tingkat pengetahuan yang meliputi semua aspek pengelolaan obat dengan kuesioner yang lebih berfokus pada obat yang diperoleh melalui layanan swamedikasi dan mayoritas studi melibatkan komunitas perkotaan. Telah diketahui perbedaan jumlah fasilitas kesehatan, akses perolehan obat, tingkat pendidikan anggota keluarga memengaruhi jumlah obat yang dikelola oleh RT (Ewunetei *et al.*, 2021; Wondimu *et al.*, 2015). Oleh karena itu, studi ini menganalisis tingkat pengetahuan pengelolaan obat di RT yang menyeluruh meliputi aspek penggunaan, gunakan, simpan, buang obat menggunakan kuesioner yang telah divalidasi pada masyarakat Desa Sekarbagus propinsi Jawa Timur yang merupakan propinsi kedua dengan jumlah desa terbanyak di Indonesia.

2. Metode

2.1. Deskripsi teknik pengumpulan data

Penelitian observasional deskriptif menggunakan desain potong-lintang dengan menganalisis tingkat pengetahuan masyarakat Desa Sekarbagus Kecamatan Sugio Kabupaten Lamongan tentang DAGUSIBU dan faktor sosiodemografi yang mempengaruhinya selama periode Maret-Mei 2021. Responden ber-KTP Desa Sekarbagus yang berusia minimal 25 tahun serta dapat berkomunikasi, membaca dan menulis dengan baik dilibatkan dalam penelitian. Sedangkan responden yang tercantum dalam Kartu Keluarga (KK) yang sama dieksklusikan. Kesediaan subjek untuk berpartisipasi dalam penelitian dibuktikan melalui persetujuan pada *informed consent*. Penelitian ini telah dinyatakan lolos kajian etik oleh Fakultas Kedokteran UII dengan nomor 24/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2021. Sementara itu, teknik *stratified sampling* untuk menentukan jumlah KK yang terlibat pada setiap dusun di lokasi penelitian dengan teknik *purposive sampling* yang digunakan dalam pemilihan subjek yang akan diwawancara. Jumlah sampel penelitian dihitung dengan menggunakan rumus estimasi proporsi. Adapun rumus yang digunakan adalah sebagai berikut (Dahlan, 2013) :

$$n \geq \frac{Z^2 p(1-p)N}{d^2(N-1)+Z^2 p(1-p)}$$

Keterangan:

n = Jumlah sampel

Z = Derajat kepercayaan (biasanya pada tingkat 95% = 1,96)

N = Jumlah populasi (1370)

p = Proporsi suatu kasus tertentu terhadap populasi, bila tidak diketahui proporsinya ditetapkan 50% (0,50)

d = derajat penyimpangan terhadap populasi yang diinginkan: 10% (0,10), 5% (0,05)

adapun perhitungan sebagai berikut:

$$n \geq \frac{1{,}96^2 \,.\, 0{,}5\,(1-0{,}5)\,1370}{0{,}05^2(4800-1)+1{,}96^2 \,.\, 0{,}5\,(1-0{,}5)} \geq 102$$

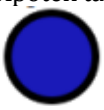
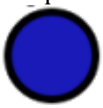
Total sampel yang dilibatkan dalam penelitian ini ditambahkan 10% (11 KK) untuk mengantisipasi *dropped-out*. Dengan demikian jumlah KK yang terlibat adalah sebanyak 113. Desa Sekarbagus memiliki 8 dusun dengan 29 RT yang terdiri dari Wonosari sebanyak 4 RT, Menengai 1 RT, Sumuran 2 RT, Guyangan 3 RT, Bagusan 5 RT, Sekaran 8 RT, Babatan 4 RT, Gampang 2 RT. Teknik pengambilan sampel KK menggunakan *stratified random sampling*, sehingga jumlah sampel KK yang diambil pada tiap dusunnya yaitu:

1. Wonosari = 4/29 x 113 = 16
2. Menengai = 1/29 x 113 = 4
3. Sumuran = 2/29 x 113 = 8
4. Guyangan = 3/29 x 113 = 12
5. Bagusan = 5/29 x 113 = 19
6. Sekaran = 8/29 x 113 = 31
7. Babatan = 4/29 x 113 = 16
8. Gampang = 2/29 x 113 = 8

2.2. Penjelasan mengenai deskripsi jalannya penelitian

Pengumpulan data dilakukan melalui wawancara untuk mendapatkan jawaban kuisioner yang diberikan kepada responden. Data diperoleh dengan cara memberikan kuisioner kepada responden secara langsung (*door to door*). Penelitian menggunakan instrumen kuesioner yang telah diperoleh dan divalidasi dari penelitian sebelumnya. Uji validitas telah dilakukan pada 30 responden dewasa di Pedukuhan Ngalang Gedangsari. Hasil uji validitas butir dihitung menggunakan perhitungan statistic SPSS oleh *Clinical Epidemiology & Biostatics Unit (CE&BU)* Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan nilai r hitung > 0,3 dan dinyatakan valid untuk mewakili aspek dalam DAGUSIBU. Sementara uji realibilitas juga dilakukan pada responden yang sama dengan nilai Cronbach alpha sebesar 0,847 (Aurianti, 2020). Meski demikian, hasil FGD (*Focused Group Discussion*) pada penelitian ini dengan melibatkan pakar bidang promosi kesehatan dan farmasi klinik menetapkan kebutuhan modifikasi pada kuesioner tersebut yaitu dengan menghapus pertanyaan nomor 12,14,16,17,18,20 dan mengganti beberapa obat yang tertulis di kuesioner sebelumnya karena obat terlalu spesifik atau sudah terwakili oleh pertanyaan yang lain. Selain itu, juga dilakukan penghapusan kolom jawaban tidak tahu karena dapat diartikan sama dengan salah. Berikut rincian modifikasi yang dilakukan pada kuisioner:

Tabel 1. Modifikasi kuesioner berdasarkan FGD

No.	Pertanyaan	Modifikasi	Pertimbangan Modifikasi
2.	Obat keras seperti amlodipine (obat tensi) dapat diperoleh di Apotek tanpa resep dokter	Obat keras seperti amlodipine (obat tensi) atau obat gula atau amoksisilin (antibiotik) dapat diperoleh di Apotek tanpa resep dokter	Mengubah nama golongan obat dengan nama yang lebih dikenal oleh masyarakat untuk mengurangi risiko kesalahan responden dalam memahami pertanyaan
4.	Apoteker dapat melayani pembelian obat antihipertensi tanpa resep dokter	Apoteker dapat melayani pembelian obat tensi atau obat gula atau antibiotik minum tanpa resep dokter	Mengubah nama golongan obat dengan nama yang lebih dikenal oleh masyarakat untuk mengurangi risiko kesalahan responden dalam memahami pertanyaan
7.	Obat Paramex dengan logo seperti gambar disamping merupakan obat bebas yang dapat diperoleh di Apotek tanpa resep dokter 	Obat Paramex dengan logo seperti gambar disamping merupakan obat bebas terbatas yang dapat diperoleh di Apotek tanpa resep dokter 	Logo pada gambar adalah obat bebas terbatas
12.	Obat dalam bentuk sediaan cair seperti sirup dapat disimpan dalam lemari pembeku (*freezer*) dengan suhu 10^0 C	Obat dalam bentuk sediaan cair seperti sirup dapat disimpan dalam lemari pembeku (*freezer*) dengan suhu -4^0 C	Suhu lemari pembeku dan suhu *freezer* berbeda
16.	Obat Antibiotik berbentuk cair dapat dibuang pada saluran pembuangan air	Obat Antibiotik berbentuk cair dapat dibuang pada saluran pembuangan air setelah diencerkan terlebih dahulu	Pertanyaan kurang spesifik
18.	Obat Betametason salep dapat langsung dibuang ke tempat sampah	Obat salep dapat langsung dibuang ke tempat sampah	Obat terlalu spesifik

2.3 Analisis Data

Untuk kategorisasi penilaian pengetahuan tiap aspek DAGUSIBU yakni aspek dapatkan dinilai baik jika nilai 7, cukup 4-6, kurang <4; aspek gunakan dinilai baik jika nilai 4, cukup 3, kurang <1-2; aspek simpan dinilai baik jika nilai 3, cukup 2, kurang ≤1; dan aspek

buang dinilai baik jika nilai 4, cukup 4-6, kurang <4. Selain itu, penilaian tingkat pengetahuan DAGUSIBU dikategorikan baik, cukup kurang bila masing-masing perolehan nilai ≤ 76-100%, 60-75%, ≤ 60%, berturutan (Aurianti, 2020). Sementara itu untuk menganalisis faktor-faktor yang memengaruhi tingkat pengetahuan responden tentang DAGUSIBU menggunakan uji *chi-square* dengan SPSS versi 21.

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini melibatkan lebih dari 100 responden masyarakat yang dinilai tingkat pengetahuannya dalam mendapatkan, menggunakan, menyimpan, dan membuang obat. Studi yang menilai pengetahuan DAGUSIBU dengan melibatkan masyarakat desa masih sangat terbatas meski telah diketahui hampir 45% populasi Indonesia tinggal di pedesaan berdasarkan hasil survey BPS tahun 2020 (Badan_Pusat_Statistik, 2020). Seiring dengan keterbatasan fasilitas kesehatan seperti rumah sakit, puskesmas termasuk sarana pendukung seperti apotek, dan toko obat, dapat memengaruhi jumlah obat yang disimpan di RT maupun pengelolaannya. Sebanyak 113 responden terlibat dalam penelitian dengan karakteristik sosiodemografi seperti tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik sosiodemografi responden

Variabel dan Kategori	Jumlah	Persentase (%)
Jenis Kelamin		
Perempuan	62	54,82
Laki-laki	51	45,13
Usia (tahun)		
Dewasa (25 - <65)	112	99,11
Lansia (≥ 65)	1	0,88
Pendidikan		
Rendah (≤SMP)	32	28,31
Tinggi (>SMP)	81	71,68
Pekerjaan		
Formal	7	6,19
Non-formal	89	78,76
Tidak bekerja	17	15,04

Semua responden yang diminta keterlibatan dalam studi ini menyatakan kesediaannya dan tidak ada satupun yang *dropped-out*. Oleh karena itu, tingkat respon partisipan sebesar 100%. Studi ini melibatkan lebih dari 50% responden adalah perempuan dan hampir seluruhnya berusia dewasa. Selain itu, sebagian besar telah menempuh pendidikan wajib belajar dan bekerja di bidang non-formal.

Terkait tingkat pengetahuan, studi ini menemukan 85% (n=113) responden berpengetahuan kategori kurang hingga cukup terkait DAGUSIBU. Bahkan untuk aspek dapatkan obat, tidak ditemukan responden berpengetahuan baik (Tabel 3) yang berarti masyarakat Desa Sekarbagus belum memahami cara mengakses obat yang legal dan terjamin kualitasnya. Salah

satu pertanyaan yang mendapatkan perhatian yang diberikan kepada responden adalah pengetahuan masyarakat mengenai cara mendapatkan obat golongan antibiotik. Pertanyaan ini menjadi menarik perhatian tinggi karena mayoritas responden menjawab cara mendapatkan obat tersebut tidak harus dengan resep dokter seperti temuan di beberapa studi lainnya (Andiarna *et al.*, 2020; Djawaria *et al.*, 2018; Ompusunggu, 2020; Yarza, 2015). Ketersediaan fasilitas *e-commerce* yang memudahkan masyarakat untuk mendapatkan obat termasuk antibiotik secara *online* maupun alasan penghematan biaya menjadi salah satu dampak ketidaksesuaian cara mendapatkan obat terutama antibiotika (Djawaria *et al.*, 2018) seperti temuan penelitian ini. Oleh karena itu, selain edukasi masyarakat, peran interpol, regulasi perlu ditingkatkan untuk meminimalkan risiko peredaran obat palsu dan pengggunaan obat termasuk antibiotik yang tepat (Adhinugroho *et al.*, 2018; Erku *et al.*, 2017).

Berbeda halnya dengan temuan survey yang melibatkan 1271 responden yang berasal dari 3 propinsi di Indonesia yaitu Jawa Barat, DKI Jakarta, dan Sulawesi Tenggara dengan mayoritas berpendidikan dasar dan menengah (87%), lebih dari 70% responden memilih untuk mendapatkan obat bebas/vitamin/suplemen, maupun obat dari apotek (Siahaan, 2017). Demikian halnya dengan survey potong lintang yang dilakukan di Kabul dengan lebih dari 50% responden berpendidikan tinggi, sebanyak 83,4% diantaranya mendapatkan obat berdasarkan resep (Bashaar *et al.*, 2017), sedangkan 497 responden Bandung dengan proporsi yang tidak berbeda signifikan antara mendapatkan obat dari peresepan dengan OTC (Insani *et al.*, 2020). Namun, kedua studi tersebut tidak hanya berfokus pada cara mendapatkan antibiotik, namun juga jenis obat lainnya.

Telah diketahui, meski jumlah apotek di wilayah pedesaan di Indonesia terutama di Pulau Jawa lebih banyak jika dibandingkan perkotaan namun jarak antara apotek dari tempat tinggal yang relatif lebih jauh (Manan *et al.*, 2021). Hal ini yang dapat mengakibatkan masyarakat desa lebih memilih untuk mendapatkan obat di toko obat atau gerai terdekat dari rumah atau secara *online* yang belum terjamin kualitasnya. Sementara itu, Tabel 3 juga menunjukkan bukan hanya aspek pembuangan obat, tapi pengetahuan penggunaan obat justru termasuk pengetahuan dengan lebih dari 50% responden termasuk kategori kurang. Sementara mayoritas studi pengelolaan obat RT lebih berfokus pada aspek penyimpanan dan pembuangan obat (Alfian *et al.*, 2021; Insani *et al.*, 2020). Ketidaksesuaian penggunaan obat terutama dilakukan oleh responden berpendidikan rendah yang memperoleh obat dari fasilitas non-apotek (Shobiye *et al.*, 2021).

Miskonsepsi penggunaan obat terutama antibiotik berdampak besar terkait permasalahan resistensi. Antibiotik dianggap efektif untuk infeksi virus, dan dapat mempercepat pemulihan batuk dan pilek menjadi penyebab penggunaan obat yang salah berdasarkan survey nasional di Malaysia (Wong *et al.*, 2021). Banyak studi juga menunjukkan dampak merugikan lain akibat penggunaan obat yang tidak tepat, mulai dari penurunan fisik, penambahan biaya

perawatan kesehatan hingga kematian (Heider *et al.*, 2018; Manias *et al.*, 2021; Sköldunger *et al.*, 2015). Sebagian besar responden dalam penelitian ini mengatakan bahwa boleh menggunakan obat milik orang lain terutama sesama anggota keluarga. Hal ini tentunya menjadi perhatian peneliti karena penyakit yang dialami pada setiap orang berbeda yang ditentukan berdasarkan diagnosis dokter dan pada masing-masing pasien memiliki dosis obat yang berbeda sesuai dengan kondisi patologis dan fisiologisnya. Penggunaan obat yang tidak tepat indikasi juga dapat menimbulkan dampak merugikan termasuk timbulnya efek samping obat yang tidak diinginkan.

Tabel 3. Distribusi tingkat pengetahuan responden pada setiap aspek tingkat pengetahuan DAGUSIBU

Aspek Pengetahuan DAGUSIBU	Kurang (%)	Cukup (%)	Baik (%)
Dapatkan	47 (41,59)	66 (58,41)	0
Gunakan	65 (57,52)	42 (37,17)	6 (5,31)
Simpan	50 (44,24)	47 (41,60)	16 (14,16)
Buang	99 (87,61)	12 (10,62)	2 (1,77)

Selain itu, pengetahuan tentang penyimpanan obat merupakan aspek DAGUSIBU dengan proporsi berpengetahuan baik tertinggi jika dibandingkan lainnya meski kurang dari seperempat responden. Proporsi berpengetahuan tentang penyimpanan obat yang lebih baik ditemukan pada studi yang melibatkan 140 responden warga kelurahan di kota Surabaya berpendidikan mayoritas minimal SMA (Savira *et al.*, 2020) maupun studi survey 809 RT di kota Gondar, Eutopia yang mayoritas anggota keluarga berpendidikan universitas (Teni *et al.*, 2017) dengan tempat penyimpanan mayoritas di lemari atau laci dan masih terjangkau anak-anak (Wondimu *et al.*, 2015). Perbedaan item pertanyaan spesifik terkait pengetahuan penyimpanan obat pada studi ini yang menanyakan terkait penyimpanan sedian obat bentuk sirup, salep, dan supositoria dengan survey lainnya dapat menjadikan perolehan hasil yang berbeda.

Semua studi survey terkait pembuangan obat di RT menunjukkan sebagian besar responden membuangnya bersama sampah rumah tangga baik survey yang dilakukan di Indonesia (Gitawati, 2014; Insani *et al.*, 2020; Savira *et al.*, 2020), maupun negara lainnya (Bashaar *et al.*, 2017; Begum *et al.*, 2021; Jafarzadeh *et al.*, 2021; Kahsay *et al.*, 2020) termasuk responden berpendidikan universitas. Praktisi kesehatan termasuk apoteker komunitas diharapkan dapat memberikan pelatihan untuk mengedukasi masyarakat tentang praktek pembuangan obat yang sesuai.

Sementara itu, beberapa faktor karakateristik sosiodemografi pasien dikaitkan dengan tingkat pengetahuan tentang DAGUSIBU. Hal ini sebagai bagian dari rekomendasi studi lanjutan tentang penyediaan alternatif model edukasi efektif tentang DAGUSIBU terutama untuk masyarakat desa dengan mempertimbangkan sosiodemografi responden seperti tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Hubungan antara sosiodemografi responden dengan tingkat pengetahuan tiap aspek DAGUSIBU

FAKTOR SOSIODEMOGRAFI	DAPATKAN				GUNAKAN				SIMPAN				BUANG			
	Kurang	Cukup	Baik	P	Kurang	Cukup	Baik	P	Kurang	Cukup	Baik	P	Kurang	Cukup	Baik	P
Jenis kelamin																
Perempuan	27	35	0	0,642	37	21	4	0,742	26	23	13	0,07	53	7	2	0,412
Laki-laki	20	31	0		29	20	2		24	24	3		46	5	0	
Usia																
Dewasa	47	65	0	0,397	66	41	5	*	50	47	15	*	98	12	2	0,931
Lansia Awal	0	1	0		0	0	1		0	0	1		1	0	0	
Tingkat pengetahuan																
Rendah	14	18	32	0,77	21	8	3	0,187	17	14	1	0,096	29	2	1	0,519
Tinggi	33	48	81		45	33	3		33	33	15		70	10	1	
Pekerjaan																
Bekerja Formal	2	5	0	0,173	4	2	1	0,697	2	3	2	0,095	4	3	0	0,065
Bekerja Non Formal	41	48	0		52	32	5		45	33	11		80	7	2	
Tidak Bekerja	4	13	17		10	7	0		3	11	3		15	2	0	

*tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji *chi-square*

Tabel 4 menunjukkan bahwa tidak ada faktor sosiodemografi masyarakat desa Sekarbagus yang memengaruhi secara signifikan tingkat pengetahuan DAGUSIBU. Keterbatasan distribusi proporsi tiap kategori variabel sosiodemografi pasien dapat menyebabkan analisis tidak dapat dilakukan lebih mendalam. Oleh karena itu, selanjutnya studi ini mengkorelasikan faktor tersebut dengan tingkat pengetahuan DAGUSIBU secara keseluruhan seperti tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hubungan antara sosiodemografi responden dengan tingkat pengetahuan DAGUSIBU

Faktor sosiodemografi	Tingkat Pengetahuan			Nilai p
	Kurang (n)	Cukup (n)	Baik (n)	
Jenis kelamin				
Perempuan	39	19	4	0,382
Laki-Laki	37	13	1	
Usia				
Dewasa	76	32	4	*
Lansia awal	0	0	1	
Tingkat pendidikan				
Rendah	25	4	3	0,027
Tinggi	51	28	2	
Pekerjaan				
Bekerja formal	4	1	2	0,008
Bekerja tidak formal	63	23	3	
Tidak bekerja	9	8	0	

*tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji *chi-square*

Seperti yang diduga, penelitian ini menemukan tingkat pendidikan dan pekerjaan memengaruhi tingkat pengetahuan masyarakat Desa Sekarbagus tentang DAGUSIBU. Hal ini menunjukkan bahwa responden yang berpendidikan tinggi dan bekerja, formal maupun informal, berpengetahuan lebih baik daripada kelompok lainnya. Demikian halnya yang ditemukan pada beberapa studi lainnya menunjukkan bersama faktor lainnya, tingkat pendidikan dan pendapatan berkorelasi positif dengan baik tingkat pengetahuan maupun praktek pengelolaan obat di RT secara signifikan (Ewunetei *et al.*, 2021; Jafarzadeh *et al.*, 2021; Ocan *et al.*, 2014; Shobiye *et al.*, 2021). Berpendidikan lebih tinggi memungkinkan seseorang untuk memiliki wawasan lebih luas, mudah untuk memahami pengetahuan dan ilmu dan ketika bekerja akan lebih banyak berinteraksi dengan orang lain dan lebih mudah mendapatkan informasi dari lingkungan sekitarnya termasuk berkaitan dengan pengetahuan DAGUSIBU.

Meski telah diupayakan sebaik mungkin, beberapa keterbatasan seperti jumlah responden yang tidak banyak jika dibandingkan studi survey berkualitas lainnya, keluasan dan kedalaman faktor-faktor lain yang berkaitan dengan pengetahuan DAGUSIBU seperti keterlibatan sebagai peserta BPJS, ada tidaknya penyakit kronik, efektivitas terapi obat sebelumnya

menyebabkan studi ini belum dapat menyediakan analisis yang lebih komprehensif. Studi lanjutan terkait dengan praktek pengelolaan obat di rumah tangga dengan melibatkan masyarakat pedesaan perlu dilakukan untuk meningkatkan derajat kesehatannya.

4. Kesimpulan

Mayoritas masyarakat Desa Sekarbagus berpengetahuan rendah terutama pada aspek menggunakan, menyimpan, dan membuang obat. Tidak satupun responden memiliki pengetahuan baik pada aspek dapatkan obat. Selain itu, tingkat pendidikan yang lebih tinggi maupun status bekerja berkorelasi dengan level pengetahuan tentang DAGUSIBU. Studi ini merekomendasikan intervensi edukasi dari praktisi promosi kesehatan termasuk apoteker komunitas kepada masyarakat untuk meningkatkan pengetahuan dan praktek DAGUDIBU yang sesuai dengan regulasi terkait peredaran obat maupun adanya peningkatan akses fasilitas jaminan kesehatan untuk masyarakat pedesaan.

Ucapan terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kepala Desa Sekarbagus kecamatan Sugio kabupaten Lamongan yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

Adhinugroho, M. Y., Susiatiningsih, H., & Farabi, N. (2018). Peran Interpol dalam Upaya Pemberantasan Obat-Obatan Palsu di Indonesia [Interpol, counterfeit drugs, Indonesia, stakeholder, synergy]. *Journal of International Relations*, *4*(1), 71-80. https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jihi/article/view/19137

Alfian, S. D., Insani, W. N., Halimah, E., Qonita, N. A., Jannah, S. S., Nuraliyah, N. M., Supadmi, W., Gatera, V. A., & Abdulah, R. (2021). Lack of Awareness of the Impact of Improperly Disposed Of Medications and Associated Factors: A Cross-Sectional Survey in Indonesian Households. *Front Pharmacol*, *12*. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.630434

Andiarna, F., Hidayati, I., & Agustina, E. (2020). Pendidikan Kesehatan tentang Penggunaan Antibiotik secara Tepat dan Efektif sebagai Upaya Mengatasi Resistensi Obat. *Journal of Community Engagement and Empowerment 2*(1).

Aurianti, J. I. (2020). *Hubungan Pengetahuan dan Praktik Terkait DAGUSIBU pada IBU PKK Pedukuhan Sumberjo, desa Ngalang, Gedang Sari, Gunung Kidul.* Universitas Sanata Dharma]. Yogyakarta.

Badan_Pusat_Statistik. (2020). *Persentase Penduduk Daerah Perkotaan Hasil Proyeksi Penduduk menurut Provinsi, 2015 - 2035*. https://www.bps.go.id/indicator/12/1886/1/jumlah-penduduk-hasil-proyeksi-menurut-provinsi-dan-jenis-kelamin.html

Bashaar, M., Thawani, V., Hassali, M. A., & Saleem, F. (2017). Disposal Practices of Unused and Expired Pharmaceuticals among General Public in Kabul. *BMC Public Health*, *17*(1), 45. https://doi.org/10.1186/s12889-016-3975-z

Begum, M. M., Rivu, S. F., Hasan, M. M. A., Nova, T. T., Rahman, M. M., Alim, M. A., Uddin, M. S., Islam, A., Nurnahar, Tabassum, N., Moni, M. M. R., Roselin, R., Das, M., Begum, R., & Rahman, M. S. (2021). Disposal Practices of Unused and Leftover Medicines in the Households of Dhaka Metropolis. *Pharmacy*, *9*(2), 103. https://www.mdpi.com/2226-4787/9/2/103

Djawaria, D. P. A., Setiadi, A. P., & Setiawan, E. (2018). Analisis Perilaku dan Faktor Penyebab Perilaku Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep di Surabaya. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, *14*(4), 406-417. https://doi.org/10.30597/mkmi.v14i4.5080

Erku, D. A., Mekuria, A. B., & Belachew, S. A. (2017). Inappropriate Use of Antibiotics among Communities of Gondar Town, Ethiopia: A Threat to The Development of Antimicrobial Resistance. *Antimicrob Resist Infect Control*, *6*, 112. https://doi.org/10.1186/s13756-017-0272-2

Ewunetei, A., Yisak, H., & Kefale, B. (2021). Household Level Drug Utilization and Associated Factors in South Gondar Zone, North Western Ethiopia. *Drug Healthc Patient Saf*, *13*, 47-58. https://doi.org/10.2147/dhps.S297354

Gitawati, R. (2014). Pattern of Household Drug Storage. *Kesmas: Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, *9*, 27. https://doi.org/10.21109/kesmas.v9i1.452

Heider, D., Matschinger, H., Meid, A. D., Quinzler, R., Adler, J. B., Günster, C., Haefeli, W. E., & König, H. H. (2018). The Impact of Potentially Inappropriate Medication on The Development of Health Care Costs and Its Moderation by The Number of Prescribed Substances. Results of a Retrospective Matched Cohort Study. *PLoS One*, *13*(7), e0198004. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198004

Insani, W. N., Qonita, N. A., Jannah, S. S., Nuraliyah, N. M., Supadmi, W., Gatera, V. A., Alfian, S. D., & Abdulah, R. (2020). Improper Disposal Practice of Unused and Expired Pharmaceutical Products in Indonesian Households. *Heliyon*, *6*(7), e04551. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04551

Jafarzadeh, A., Mahboub-ahari, A., Najafi, M., Yousefi, M., & Dalal, K. (2021). Medicine Storage, Wastage, and Associated Determinants among Urban Households: A Systematic Review and Meta-analysis of Household Surveys. *BMC Public Health*, *21*. https://doi.org/10.1186/s12889-021-11100-4

Kahsay, H., Ahmedin, M., Kebede, B., Gebrezihar, K., Araya, H., & Tesfay, D. (2020). Assessment of Knowledge, Attitude, and Disposal Practice of Unused and Expired Pharmaceuticals in Community of Adigrat City, Northern Ethiopia. *Journal of Environmental and Public Health*, *2020*, 6725423. https://doi.org/10.1155/2020/6725423

Manan, A., Utami, P., & Siswanto, A. (2021). Profil Distribusi Apotek di Kabupaten Banyumas berdasarkan Sistem Informasi Geografi dan Korelasinya dengan Jumlah Kunjungan dan Resep Tahun 2019. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, *11*(2), 142-155. https://doi.org/ https://doi.org/10.22435/jki.v11i2.3961

Manias, E., Kabir, M. Z., & Maier, A. B. (2021). Inappropriate Medications and Physical Function : A Systematic Review. *Ther Adv Drug Saf*, *12*, 20420986211030371. https://doi.org/10.1177/20420986211030371

Ocan, M., Bbosa, G., Waako, P., Ogwal-Okeng, J., & Obua, C. (2014). Factors Predicting Home Storage of Medicines in Northern Uganda. *BMC Public Health*, *14*, 650. https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-650

Ompusunggu, H. (2020). Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Perilaku PenggunaanAntibiotik Tanpa Resep pada Mahasiswa/I Universitas HKBP Nommensen Medan. *Nommensen Journal of Medicine*, *5*(2), 48-51. https://doi.org/ https://doi.org/https://doi.org/10.36655/njm.v5i2.226

Savira, M., Ramadhani, F. A., Nadhirah, U., Lailis, S. R., Ramadhan, E. G., Febriani, K., Patamani, M. Y., Savitri, D. R., Awang, M. R., Hapsari, M. W., Rohmah, N. N., Ghifari, A. S., Majid, M. D. A., Duka, F. G., & Nugraheni, G. (2020). Praktik Penyimpanan dan Pembuangan Obat dalam Keluarga. Jurnal Farmasi Komunitas *Jurnal Farmasi Komunitas*, *7*(2), 38-47. https://doi.org/https://doi.org/10.20473/jfk.v7i2.21804

Shobiye, H. O., Bolarinwa, O. A., Fasiku, M. M., Akande, T. M., & Janssens, W. (2021). What Medicines Do Households Keep in Their Cabinets? Understanding the Possession and Use of Medicines at Home and The Role of Health Insurance in Nigeria. *PLoS One*, *16*(2), e0247591. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247591

Siahaan, S., Usia, T., Pujiati, S., Tarigan, I.U., Murhandini, S., Isfandari, S., Tiurdinawati, T. (2017). Pengetahuan, Sikap, dan Perilaku Masyarakat dalam Memilih Obat yang Aman di Tiga

Provinsi di Indonesia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, *7*(2), 136–145. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22435/jki.v7i2.5859.136-145

Sköldunger, A., Fastbom, J., Wimo, A., Fratiglioni, L., & Johnell, K. (2015). Impact of Inappropriate Drug Use on Hospitalizations, Mortality, and Costs in Older Persons and Persons with Dementia: Findings from the SNAC Study. *Drugs Aging*, *32*(8), 671-678. https://doi.org/10.1007/s40266-015-0287-4

Teni, F. S., Surur, A. S., Belay, A., Wondimsigegn, D., Gelayee, D. A., Shewamene, Z., Legesse, B., & Birru, E. M. (2017). A Household Survey of Medicine Storage Practices in Gondar Town, Northwestern Ethiopia. *BMC Public Health*, *17*(1), 238. https://doi.org/10.1186/s12889-017-4152-8

Wondimu, A., Molla, F., Demeke, B., Eticha, T., Assen, A., Abrha, S., & Melkam, W. (2015). Household Storage of Medicines and Associated Factors in Tigray Region, Northern Ethiopia. *PLoS One*, *10*(8), e0135650. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135650

Wong, L. P., Alias, H., Husin, S. A., Ali, Z. B., Sim, B., & Ponnampalavanar, S. S. S. (2021). Factors Influencing Inappropriate Use of Antibiotics: Findings from A Nationwide Survey of The General Public in Malaysia. *PLoS One*, *16*(10), e0258698. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258698

Yarza, H. L., Yanwirasti, Y., Irawati, L. (2015). Hubungan Tingkat Pengetahuan dan Sikap dengan Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep Dokter. *Jurnal Kesehatan Andalas 4*(1). https://doi.org/https://doi.org/10.25077/jka.v4i1.214

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 88-100
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

The relationship of empirical antibiotic appropriateness based on ATS/IDSA with clinical outcome and LOS for sepsis pneumonia patients in ICU

Hubungan kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA dengan *outcome* klinik dan LOS pasien sepsis pneumonia di ICU

Muhammad Luthfi Aziz[1], Ika Puspita Sari[1*], Rizka Humardewayanti Asdie[2]

[1]Magister Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada
[2]Departemen Penyakit Dalam, RSUP. Dr. Sardjito Yogyakarta

**Corresponding author*: Ika.puspitasari@gmail.com

Abstract

Background: In ICU (Intensive Care Unit), sepsis is the most common cause of death, with pneumonia being the most common source of infection. The management of sepsis pneumonia is determined by the therapy used. One of the supporting aspects in the successful treatment of sepsis pneumonia is appropriate empiric antibiotic therapy.
Objective: Determine the relationship between the appropriateness of empirical antibiotics based on ATS/IDSA (*American Thoracic Society/ The Infectious Disease Society of America*) with clinical outcome and LOS (Length Of Stay) in ICU patients with sepsis pneumonia.
Method: An observational study with a retrospective cohort design in ICU patients with sepsis pneumonia from January 2019-December 2020 at RS X Jakarta. The study involved 99 patients who were divided into two groups based on appropriate and inappropriate with ATS/IDSA. Data were analyzed using bivariate and multivariate for reducing the confounding factor.
Results: The appropriateness of empirical antibiotics was found to be appropriate in 48.48% (48 patients), while 51.52% (51 patients) were inappropriate with ATS/IDSA. There was a relationship between empirical antibiotic appropriateness and clinical outcome (p=0.042; RR=1.430; 95%CI=1.039-1.969) based on the chi-square test, but no relationship with LOS (p=0.629) based on the Mann Whitney test. The multivariate analysis showed that there were no confounding factors affecting the clinical outcome (p>0.05).
Conclusion: There is a relationship between empirical antibiotic appropriateness based on ATS/IDSA with clinical outcomes but not related to the length of stay in sepsis pneumonia patients in the ICU.
Keywords: sepsis pneumonia, antibiotic empiric, clinical outcome, LOS

Intisari

Latar belakang: Sepsis merupakan penyebab kematian terbanyak di ICU (*Intensive Care Unit*), dengan sumber infeksi tertinggi adalah pneumonia. Keberhasilan pengobatan sepsis pneumonia bergantung pada terapi yang diberikan. Pemberian terapi antibiotik empirik yang sesuai merupakan salah satu faktor penunjang keberhasilan pengobatan sepsis pneumonia.
Tujuan: Mengetahui hubungan kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA (*American Thoracic Society/ The Infectious Disease Society of America*) dengan *outcome* klinik dan lama waktu rawat pasien sepsis pneumonia di ICU.
Metode: Penelitian observasional dengan rancangan kohort retrospektif pada pasien ICU dengan diagnosis sepsis pneumonia periode 1 Januari 2019-31 Desember 2020 di RS X Jakarta. Penelitian melibatkan 99 pasien yang terbagi dalam kelompok sesuai dan tidak sesuai ATS/IDSA. Data dianalisis dengan uji bivariat serta multivariat untuk mereduksi variabel pengganggu.

Hasil: Kesesuaian antibiotik empirik diperoleh sebesar 48,48% (48 pasien) telah sesuai dan 51,52% (51 pasien) tidak sesuai ATS/IDSA. Berdasarkan hasil uji *chi-square* terdapat hubungan kesesuaian antibiotik empirik dengan *outcome* klinik (p=0,042; RR=1,430; 95%CI=1,039-1,969) dan berdasarkan uji *mann whitney* tidak terdapat hubungan antara kesesuaian antibiotik empirik dengan lama waktu rawat (p=0,629). Hasil analisis multivariat menunjukkan tidak ada faktor pengganggu yang mempengaruhi *outcome* klinik (p>0,05).
Kesimpulan: Kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA pada pasien sepsis pneumonia di ICU memiliki hubungan dengan *outcome* klinik namun tidak berhubungan dengan lama waktu rawat.
Kata kunci: sepsis pneumonia, antibiotik empirik, *outcome* klinik, lama waktu rawat

1. Pendahuluan

Sepsis didefinisikan sebagai disfungsi organ yang mengancam jiwa akibat terjadinya disregulasi respon tubuh terhadap adanya suatu infeksi. Pasien dengan sepsis yang berkelanjutan dapat berkembang menjadi syok sepsis, dimana pada kondisi syok sepsis telah terjadi abnormalitas sirkulasi dan metabolisme seluler yang cukup parah sehingga memiliki risiko mortalitas yang lebih besar (Singer *et al.*, 2016).

Berdasarkan data di negara-negara maju menunjukkan bahwa terdapat 31,5 juta kasus sepsis dan 19,4 juta kasus syok sepsis secara global setiap tahun, dengan potensi kematian sebesar 5,3 juta setiap tahun (Fleischmann *et al.*, 2016). Sepsis merupakan penyebab kematian tertinggi di ICU (*Intensive Care Unit)* dengan sumber infeksi tertinggi penyebab terjadinya sepsis dan syok sepsis di ICU adalah infeksi saluran nafas (Dewi *et al.*, 2018; Nainggolan, 2017). Pneumonia menjadi penyebab infeksi paling umum pada sepsis yang bersumber dari saluran pernafasan, termasuk pneumonia yang didapat dari komunitas dan pneumonia yang didapat di rumah sakit (Giuliano & Baker, 2020). Tingkat keberhasilan terapi, penurunan lama waktu rawat dan penurunan angka kematian akibat sepsis pneumonia bergantung pada jenis terapi yang diberikan. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi peningkatan angka kematian pasien sepsis dan syok sepsis, yaitu pemberian jenis antibiotik empirik yang tidak sesuai dengan sumber infeksi, pemberian dosis antibiotik empirik yang tidak sesuai, waktu pemberian antibiotik empirik lebih dari 6 jam (Katu *et al.*, 2017). Penggunaan antibiotik pada sepsis direkomendasikan untuk diberikan secara empirik dengan satu atau lebih jenis antibiotik berspektrum luas yang diharapkan mampu membunuh beberapa patogen penyebab sepsis (Rhodes *et al.*, 2017).

ATS/IDSA (*American Thoracic Society/ The Infectious Disease Society of America*) telah membuat beberapa kriteria penggunaan antibiotik empirik pada kondisi sepsis dan syok sepsis dengan sumber infeksi pneumonia (Kalil *et al.*, 2016). Kriteria penggunaan antibiotik empirik tersebut telah dijadikan acuan oleh PDPI (Persatuan Dokter Paru Indonesia) dan PERDICI (Perhimpunan Dokter *Intensive Care* Indonesia) dalam pembuatan Pedoman Diagnosis &

Penatalaksanaan Pneumonia Komunitas di Indonesia dan Pedoman Antibiotik Empirik di Unit Rawat Intensif. Berdasarkan hal tersebut, pedoman ATS/IDSA dapat dijadikan dasar acuan dalam menangani pasien sepsis pneumonia, karena penggunaan antibiotik empirik yang tepat merupakan salah satu faktor penunjang yang dapat mempengaruhi keberhasilan terapi. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menganalisis hubungan kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA terhadap *outcome* klinik dan lama waktu rawat pasien sepsis pneumonia di ICU.

2. Metode

2.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional deskriptif-analitik dengan desain retrospektif kohort. Instrumen penelitian menggunakan catatan medik pasien dengan diagnosis sepsis pneumonia antara Januari 2019-Desember 2020. Pengambilan data dilakukan di Instalasi Catatan Medik RS X Jakarta Selatan secara *consecutive sampling* selama 3 bulan yaitu November 2021-Januari 2022.

2.2. Subyek penelitian

Catatan medik yang memenuhi kriteria inklusi berupa pasien ICU dengan diagnosis sepsis pneumonia (non covid-19) berusia ≥18 tahun dan memiliki catatan medik yang lengkap meliputi: jenis kelamin, usia, berat badan, diagnosis penyakit, hasil laboratorium, riwayat pengobatan, jenis antibiotik, lama pemberian antibiotik, dosis antibiotik, lama rawat di ICU dan parameter *outcome* klinik. Kriteria eksklusi terdiri dari pasien pulang paksa atau hari perawatan di ICU <48 jam dan pasien ibu hamil. Sampel yang diperoleh yaitu 275 pasien dengan 99 pasien memenuhi kriteria inklusi. Subjek penelitian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok dengan pemberian antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA dan tidak sesuai ATS/IDSA.

2.3. Tahap penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh *Medical and Health Research Ethic Committee* Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, dengan nomor KET-774/UN2.FI/ETIK/PPM.00.02/2021. Penelitian ini juga mendapatkan izin dari RS X Jakarta Selatan. Data yang dikumpulkan meliputi inisial identitas pasien, nomor rekam medik, jenis kelamin, tanggal lahir, usia, berat badan, lama rawat di ICU, diagnosis utama, status kondisi klinik, riwayat alergi antibiotik, penyakit penyerta infeksi dan non infeksi, terapi antibiotik, lama terapi antibiotik, data radiologi (*CT-Thorax*), data laboratorium (leukosit, prokalsitonin) dan tanda-tanda vital pasien (suhu, *respiratory rate*).

2.4. Analisis data

2.4.1 Penilaian kesesuaian antibiotik empirik

Kesesuaian pemberian antibiotik empirik merupakan salah satu bagian penting dalam tingkat keberhasilan terapi sepsis pneumonia dengan mempertimbangkan beberapa hal, diantaranya status klinik pasien, riwayat penggunaan antibiotik dalam tiga bulan sebelumnya, riwayat penyakit pasien serta potensi adanya intoleransi dan toksisitas obat. Antibiotik empirik yang diberikan dievaluasi dalam jangka waktu 72 jam berdasarkan kondisi klinik pasien, data mikrobiologi, dan data penunjang lainnya. Antibiotik empirik dapat diberikan secara tunggal atau kombinasi dari beberapa jenis antibiotik berspektrum luas sesuai dengan kriteria dari ATS/IDSA.

2.4.2. Penilaian outcome klinik

Outcome klinik dinyatakan membaik jika memperlihatkan adanya perbaikan respon terapi setelah 72 jam pemberian antibiotik empirik yang ditunjukkan dengan adanya perbaikan klinik menurut dokter dan/atau memenuhi salah satu kriteria, seperti perbaikan beberapa parameter tanda-tanda vital mendekati normal (suhu 36,5°C - 37,5°C dan laju pernafasan 16-20x/menit), penurunan kebutuhan dosis terapi vasopresor, perbaikan gambaran hasil *x-ray thorax,* penurunan angka leukosit mendekati nilai normal (4.000-12.000/mm^3) dan angka prokalsitonin mendekati normal (<0.05 ng/mL). *Outcome* klinik dinyatakan belum membaik jika tidak memperlihatkan adanya perbaikan respon terapi setelah 72 jam diberikan antibiotik empirik yang ditunjukkan dengan adanya respon klinik yang memburuk menurut dokter dan/atau memenuhi salah satu kriteria diatas.

2.4.3. Penilaian length of stay

Lama waktu rawat dihitung sejak pasien dirawat di ICU dengan diagnosis sepsis pneumonia dan telah diberikan terapi antibiotik empirik hingga pasien pindah ruangan atau meninggal setelah perawatan selama 3 hari di ICU. Data lama waktu rawat dibedakan menjadi dua, yaitu rata-rata lama waktu rawat pada kelompok pemberian antibiotik yang sesuai ATS/IDSA dan tidak sesuai ATS/IDSA.

2.4.4. Analisis statistik

Analisis data deskriptif digunakan untuk menggambarkan karakteristik pasien yang disajikan dalam bentuk persentase. Analisis data bivariat dengan tingkat kepercayaan 95% (α=0,05) dilakukan untuk mengetahui hubungan antara kesesuaian antibiotik empirik (variabel bebas) dengan *outcome* klinik (variabel tergantung) menggunakan uji c*hi-square.* Analisis hubungan lama waktu rawat pasien sepsis pneumonia (variabel tergantung) dengan kesesuaian antibiotik empirik (variabel bebas) menggunakan uji *mann whitney*. Analisis data multivariat bertahap menggunakan

regresi logistik berganda dilakukan untuk mengetahui hubungan antara variabel pengganggu dengan *outcome* klinik dan uji *Anacova* untuk mengetahui hubungan antara variabel pengganggu dengan lama waktu rawat. Variabel pengganggu meliputi usia, jenis kelamin, riwayat penyakit penyerta baik infeksi maupun non infeksi, riwayat alergi antibiotik dan penggunaan obat selain antibiotik (propofol dan fentanil). Propofol dan fentanil dipilih sebagai variabel pengganggu karena kedua terapi tersebut digunakan pada pasien ICU sebagai obat sedasi dan analgetik yang kemungkinan dapat mempengaruhi *outcome* klinik karena memiliki efek samping gangguan pernafasan.

3. Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil telaah data rekam medik pada Januari 2019-Desember 2020, dari total 275 pasien dengan diagnosis sepsis pneumonia, sebanyak 99 pasien memenuhi kriteria inklusi. Sebanyak 176 pasien dieksklusi diantaranya, 56 pasien dengan data tidak lengkap, 21 pasien berusia <18 tahun, 79 pasien dengan lama perawatan <48 jam, dan 20 pasien covid-19. Total dari 99 pasien tersebut terbagi dalam 2 kelompok seperti yang tertera pada data karakteristik pasien (Tabel 1), yakni kelompok pasien dengan pemberian antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA sebanyak 48 pasien (48,48%) dan kelompok pasien dengan pemberian antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA sebanyak 51 pasien (51,52%).

Pemilihan antibiotik empirik yang sesuai dapat menjadi salah satu faktor penunjang keberhasilan terapi sepsis dengan mempertimbangkan beberapa hal, diantaranya: status klinik pasien, riwayat pengobatan, riwayat penyakit, memperhatikan potensi adanya intoleransi obat dan toksisitas obat serta ada tidaknya risiko paparan bakteri MDR (*Multi Drug Resistance*). Pasien pneumonia yang memiliki faktor risiko MDR diantaranya memiliki riwayat penggunaan antibiotik intravena dalam 90 hari sebelumnya, pasien mengalami syok sepsis, ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*), pernah dirawat di rumah sakit lebih dari 5 hari (Evans *et al.*, 2021; Kalil *et al.*, 2016; Rhodes *et al.*, 2017). ATS/IDSA telah memaparkan beberapa faktor tersebut sebagai pertimbangan dalam pemilihan antibiotik pada kondisi penumonia sepsis (Kalil *et al.*, 2016; Metlay *et al.*, 2019).

Karakteristik pasien pada Tabel 1 secara statistik menunjukkan bahwa semua persebaran data kedua kelompok merata (p>0,05). Jumlah subjek usia lanjut (>60 tahun) yang menderita sepsis pneumonia mencapai 79 subjek (79,8%) pada kedua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa insiden pneumonia komunitas meningkat seiring dengan bertambahnya usia dan pneumonia menjadi diagnosis terbanyak ketiga pada individu dengan usia >65 tahun (Sari *et al.*, 2017). Insiden sepsis

diketahui juga meningkat secara tidak proporsional pada pasien geriatri berusia 65-84 tahun dan pasien geriatri berusia ≥85 tahun (Lee *et al.*, 2018). Peningkatan kualitas hidup merupakan tujuan dari pengobatan sepsis dan syok sepsis, dengan adanya kondisi penyakit penyerta mungkin dapat membatasi tingkat kualitas hidup atau bahkan dapat merusak kualitas hidup pasien (Evans *et al.*, 2021). Pada Tabel 1 dipaparkan bahwa semua pasien sepsis pneumonia yang diteliti memiliki penyakit penyerta yang terbagi dalam 2 kelompok berdasarkan skor uCCI (*Update Charlson Comorbidity Index*). Semakin tinggi skor uCCI menandakan penyakit penyerta semakin banyak dan kompleks sehingga dapat meningkatkan angka mortalitas (Ternavasio-de la Vega *et al.*, 2018).

Tabel 1. Karakteristik pasien sepsis pneumonia

Karakteristik Pasien	**Kelompok antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA (n=48)**	**Kelompok antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA (n=51)**	**Nilai p**
Usia, n (%)			
18-59 tahun	13 (27,1)	7 (13,7)	0,160
>60 tahun	35 (72,9)	44 (86,3)	
Jenis kelamin, n (%)			
Laki-laki	28 (58,3)	24 (47,1)	0,357
Perempuan	20 (41,7)	27 (52,9)	
Riwayat alergi antibiotik, n (%)			
Ya	9 (18,7)	7 (13,7)	0,685
Tidak	39 (81,3)	44 (86,3)	
Penyakit penyerta, n (%)			
uCCI ≤ 3	33 (68,7)	39 (76,5)	0,525
uCCI ≥ 4	15 (31,3)	12 (23,5)	
Infeksi penyerta, n (%)			
Ya	8 (16,7)	12 (23,5)	0,549
Tidak	40 (83,3)	39 (76,5)	
Penggunaan obat lain (propofol), n (%)			
Ya	36 (75)	37 (72,5)	0,961
Tidak	12 (25)	14 (27,5)	
Penggunaan obat lain (fentanil), n (%)			
Ya	6 (9,1)	4 (7,8)	0,664
Tidak	42 (90,9)	47 (92,2)	

Keterangan: uCCI: *Update Charlson Comorbidity Index*

Berdasarkan hasil analisis bivariat dengan *chi-square* (Tabel 2), diketahui terdapat hubungan antara kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA dengan *outcome* klinik (p=0,042; RR = 1,430; 95% CI = 1,039-1,969). Persentase perbaikan *outcome* klinik setelah mendapatkan antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA sebanyak 35 pasien (72,9%), sementara 13 pasien (27,1%) belum

mengalami perbaikan kondisi. Pada kelompok pasien yang diberikan antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA sebanyak 25 pasien dari 51 pasien (49,1%) belum mengalami perbaikan *outcome* klinik. Hasil penelitian ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Manik *et al* (2020) mengenai evaluasi penggunaan antibiotik empirik pada pasien pneumonia nosokomial di ruang ICU dengan hasil rasionalitas penggunaan antibiotik memiliki hubungan yang signifikan terhadap *outcome* klinik ($p<0,05$). Kelompok pasien pneumonia nosokomial di ICU dengan antibiotik yang tidak rasional sebanyak 67 regimen (69,8%) dan rasional sebanyak 29 regimen (30,2%). Sebanyak 29 penggunan regimen antibiotik yang rasional terdapat 10 pasien dengan *outcome* klinik membaik. Sementara itu, pada 67 penggunaan regimen antibiotik yang tidak rasional terdapat 4 pasien dengan *outcome* klinik yang membaik. Penentuan rasionalitas antibiotik empirik ini disesuaikan dengan beberapa pedoman, salah satunya ialah pedoman pneumonia dari ATS/IDSA. Hal ini memperkuat kenyataan bahwa meskipun penggunaan antibiotik empirik berspektrum luas dengan satu atau lebih jenis antibiotik harus segera diberikan pada pasien sepsis dan syok sepsis yang belum diketahui jenis bakteri penyebabnya namun harus ada panduan yang mengatur penggunaannya (Ferrer *et al.*, 2014; Levy *et al.*, 2018).

Tabel 2. Hubungan antara kesesuaian antibiotik empirik dengan *outcome* klinik

Parameter	Kelompok antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA (n=48)	Kelompok antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA (n=51)	Nilai p	RR	95% CI
Membaik n (%)	35 (72,9)	26 (50,9)	0,042*	1,430	1,039-1,969
Belum membaik n (%)	13 (27,1)	25 (49,1)			

Keterangan
*Hasil Uji *Chi square*, tingkat kepercayaan 95% (sigifikansi *p-value* <0,05)

Tabel 3. Analisis regresi logistik multivariat

Parameter	Analisis Regresi Multivariat		
	Nilai p	OR	95% CI
Usia	0,071	3,072	0,909-10,381
Jenis kelamin	0,381	1,467	0,622-3,461
Riwayat alergi antibiotik	0,060	3,658	0,945-14,153
Penyakit penyerta	0,866	0,924	0,371-2,305

Parameter	Analisis Regresi Multivariat		
	Nilai p	OR	95% CI
Infeksi penyerta	0,728	1,199	0,431-3,339
Penggunaan propofol	0,354	0,637	0,245-1,655
Penggunaan fentanil	0,567	1,512	0,366-6,243

Hasil *outcome* klinik pada penelitian ini terdapat kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa parameter lain, sehingga untuk melihat adanya pengaruh beberapa parameter tersebut dilakukan analisis multivariat seperti yang tertera pada Tabel 3. Berdasarkan hasil analisis multivariat pada Tabel 3 tersebut, tidak terdapat parameter lain atau faktor pengganggu yang terbukti dapat mempengaruhi *outcome* klinik (p>0,05). Hubungan beberapa parameter lain seperti usia, jenis kelamin, penyakit penyerta, riwayat alergi antibiotik dan obat selain antibiotik yang digunakan (propofol dan fentanil) dengan *outcome* klinik memberikan hasil yang berbeda-beda pada beberapa penelitian.

Pada penelitian ini, usia diketahui tidak mempengaruhi *outcome* klinik pasien secara statistik (p>0,05). Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Chen *et al* (2014) yang meneliti sebanyak 254 pasien dengan 63,8% pasien berusia ≥65 tahun, menyatakan bahwa usia tidak mempengaruhi *outcome* klinik dan bukanlah sebagai prediktor kematian pasien sepsis di ICU. Sementara itu, sebuah studi prospektif multisenter yang melibatkan 1490 pasien dengan usia ≥65th ditemukan bahwa pasien sepsis yang berusia 80 tahun atau lebih memiliki *outcome* klinik yang buruk dengan angka mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan pasien yang berusia 65-79 tahun (Martin-Loeches *et al.*, 2019).

Jenis kelamin ketahui dapat mempengaruhi *outcome* klinik pasien sepsis pada penelitian dengan subjek 6134 pasien yang terdiri dari 2677 laki-laki dan 3457 perempuan. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa perempuan dengan sepsis memiliki *outcome* klinik yang lebih baik daripada pria dengan tingkat mortalitas yang lebih rendah (Xu *et al.*, 2019). Sementara penelitian Wernly *et al* (2021) dengan jumlah subjek penelitian sebanyak 8781 laki-laki dan 8365 perempuan menyatakan bahwa tidak ada perbedaan *outcome* antara kedua kelompok yang relevan secara klinis pada pasien sepsis. Hasil tersebut mendukung pada penelitian ini bahwa secara statistik jenis kelamin tidak mempengaruhi *outcome* klinik pasien sepsis pneumonia di ICU (p>0,05).

Penyakit penyerta atau komorbid pada penelitian ini terdiri dari penyakit penyerta non infeksi dan penyakit penyerta infeksi. Faktor komorbiditas penyakit kronis seperti diabetes dan

disfungsi organ kronis seperti gagal hati atau gagal ginjal dapat memperburuk kondisi sepsis pneumonia yang dialami pasien dengan menurunnya pertahanan tubuh terhadap infeksi, sehingga infeksi menjadi lebih sulit teratasi dan *outcome* klinik pasien dapat memburuk (Rhodes *et al.*, 2017). Pada penelitian ini, penyakit komorbid yang dimiliki pasien sepsis pneumonia dinilai dengan skor uCCI (*Update Charlson Comorbidity Index*) untuk dilakukan analisis apakah penyakit komorbid tersebut dapat mempengaruhi *outcome* klinik. Berdasarkan hasil statistik didapatkan bahwa penyakit penyerta tidak mempengaruhi *outcome* klinik (p>0,05). Hasil penelitian ini didukung bahwa penyakit penyerta seperti Diabetes Melitus dan HIV pada pasien sepsis diketahui tidak mempengaruhi *outcome* klinik serta kejadian perburukan gangguan organ pernafasan (Prebil *et al.*, 2011). Sementara itu, menurut penelitian oleh Whiles *et al* (2016), terdapat hubungan positif antara jumlah penyakit penyerta dengan *outcome* dan mortalitas pada pasien sepsis apabila terdapat 4 atau lebih penyakit penyerta.

Pada penelitian ini, secara statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian obat selain antibiotik (propofol dan fentanil) terhadap *outcome* klinik pasien sepsis pneumonia di ICU (p>0,05). Fentanil merupakan obat golongan opioid kuat yang memiliki efek anti nyeri kuat namun memiliki efek samping yang berat pada pasien di ICU. Sebuah penelitian memaparkan bahwa fentanil merupakan salah satu faktor risiko yang dapat memperburuk pasien dengan ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*) atau pada pasien yang memiliki risiko ARDS (A. M. Hu *et al.*, 2021). Depresi pernafasan merupakan efek samping yang umum dari fentanil dan propofol. Penelitian Hannam *et al* (2016) mengungkapkan bahwa penggunaan propofol pada pasien yang lebih tua akan lebih rentan mengalami depresi pernafasan, sehingga perlu kehati-hatian dalam penggunaan obat-obatan sedasi. Penelitian oleh Hu, Zhong, *et al* (2021) yang membandingkan propofol dengan dexmedetomidine pada pasien dengan atau yang berisiko ARDS mengungkapkan bahwa terapi dengan propofol memiliki *outcome* yang lebih buruk dibuktikan dengan tingginya angka kematian dirumah sakit. Beberapa penelitian tersebut menunjukkan bahwa hasil penelitian bergantung pada subjek dan besar sampel yang digunakan.

Hasil analisis bivariat dengan *mann whitney* (Tabel 4), menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA terhadap *Length of Stay* karena tidak terdapat perbedaan rata-rata lama waktu rawat antara kedua kelompok (p=0,629). Uji multivariat pada penelitian ini tidak dapat dilakukan pada analisis data LOS karena tidak memenuhi syarat uji normalitas (p=0,000). Secara teori, dengan diterapkannya suatu panduan dapat mempercepat lama waktu rawat pasien di rumah sakit (Ellen, 2014).

Tabel 4. Hubungan antara kesesuaian antibiotik empirik dengan l*ength of stay*

Parameter	Kelompok antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA (n=48)	Kelompok antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA (n=51)	Nilai p
Length of Stay Mean ± SD (Median)	7,13 ± 4,51 (6,5)	6,59 ± 3,46 (6)	0,629

Pada penelitian ini, rata-rata lama waktu rawat pada kelompok pemberian antibiotik empirik yang sesuai yaitu selama 7,13 hari dan 6,59 hari pada kekompok tidak sesuai ATS/IDSA. Lama waktu rawat kelompok antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA memiliki rata-rata lama waktu rawat yang lebih lama dibandingkan pada kelompok antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA. Hal ini dapat dikarenakan peneliti hanya memberi batasan lama waktu rawat yang terhitung sejak pasien terdiagnosis sepsis pneumonia hingga pasien pindah ruangan atau meninggal setelah 3 hari perawatan di ICU dan setelah dilakukan evaluasi terapi antibiotik empirik. Selain itu pada penelitian ini terdapat 10 subjek yang terdiagnosis syok sepsis pneumonia dari total 51 subjek yang mendapat terapi antibiotik empirik tidak sesuai dengan ATS/IDSA. Pasien dengan syok sepsis diketahui memiliki risiko angka kematian yang jauh lebih besar dibandingkan pada pasien dengan sepsis (Singer *et al.*, 2016). Sehingga pada penelitian ini kelompok pasien yang mendapatkan antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA memiliki lama waktu rawat yang lebih pendek.

4. Kesimpulan

Kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA pada pasien sepsis pneumonia di ICU memiliki hubungan dengan *outcome* klinik. Pemberian antibiotik empirik sesuai ATS/IDSA secara statistik dapat memperbaiki *outcome* klinik pasien sebesar 1,43 kali dibandingkan pasien yang diberikan antibiotik empirik tidak sesuai ATS/IDSA, sementara untuk lama waktu rawat tidak ditemukan adanya hubungan dengan kesesuaian antibiotik empirik berdasarkan ATS/IDSA.

Daftar pustaka

Chen, C.-M., Cheng, K.-C., Chan, K.-S., & Yu, W.-L. (2014). Age May Not Influence the Outcome of Patients with Severe Sepsis in Intensive Care Units. *International Journal of Gerontology*, *8*. https://doi.org/10.1016/j.ijge.2013.08.004

Dewi, R. S., Radji, M., & Andalusia, R. (2018). Evaluation of Antibiotic Use Among Sepsis Patients in an Intensive Care Unit: A cross-sectional study at a referral hospital in Indonesia. *Sultan Qaboos Univ Med J*, *18*(3), e367-e373. https://doi.org/10.18295/squmj.2018.18.03.017

Ellen, M. (2014). The Impact of Acute Care Clinical Practice Guidelines on Length of Stay: A Closer Look at some Conflicting Findings. *Journal of Hospital Administration*, *3*(4), 25. https://doi.org/10.5430/jha.v3n4p25

Evans, L., Rhodes, A., Alhazzani, W., Antonelli, M., Coopersmith, C. M., French, C., Machado, F. R., McIntyre, L., Ostermann, M., Prescott, H. C., Schorr, C., Simpson, S., Wiersinga, W. J., Alshamsi, F., Angus, D. C., Arabi, Y., Azevedo, L., Beale, R., Beilman, G., Belley-Cote, E., Burry, L., Cecconi, M., Centofanti, J., Coz Yataco, A., De Waele, J., Dellinger, R. P., Doi, K., Du, B., Estenssoro, E., Ferrer, R., Gomersall, C., Hodgson, C., Møller, M. H., Iwashyna, T., Jacob, S., Kleinpell, R., Klompas, M., Koh, Y., Kumar, A., Kwizera, A., Lobo, S., Masur, H., McGloughlin, S., Mehta, S., Mehta, Y., Mer, M., Nunnally, M., Oczkowski, S., Osborn, T., Papathanassoglou, E., Perner, A., Puskarich, M., Roberts, J., Schweickert, W., Seckel, M., Sevransky, J., Sprung, C. L., Welte, T., Zimmerman, J., & Levy, M. (2021). Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Intensive Care Med*, *47*(11), 1181-1247. https://doi.org/10.1007/s00134-021-06506-y

Ferrer, R., Martin-Loeches, I., Phillips, G., Osborn, T. M., Townsend, S., Dellinger, R. P., Artigas, A., Schorr, C., & Levy, M. M. (2014). Empiric Antibiotic Treatment Reduces Mortality in Severe Sepsis and Septic Shock from The First Hour: Results from A Guideline-based Performance Improvement Program. *Crit Care Med*, *42*(8), 1749-1755. https://doi.org/10.1097/ccm.0000000000000330

Fleischmann, C., Scherag, A., Adhikari, N. K., Hartog, C. S., Tsaganos, T., Schlattmann, P., Angus, D. C., & Reinhart, K. (2016). Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*, *193*(3), 259-272. https://doi.org/10.1164/rccm.201504-0781OC

Giuliano, K. K., & Baker, D. (2020). Sepsis in the Context of Nonventilator Hospital-Acquired Pneumonia. *American journal of critical care : an official publication, American Association of Critical-Care Nurses*, *29*(1), 9-14. https://doi.org/10.4037/ajcc2020402

Hannam, J. A., Borrat, X., Trocóniz, I. F., Valencia, J. F., Jensen, E. W., Pedroso, A., Muñoz, J., Castellví-Bel, S., Castells, A., & Gambús, P. L. (2016). Modeling Respiratory Depression Induced by Remifentanil and Propofol during Sedation and Analgesia Using a Continuous Noninvasive Measurement of pCO2. *J Pharmacol Exp Ther*, *356*(3), 563-573. https://doi.org/10.1124/jpet.115.226977

Hu, A.-M., Zhong, X.-X., Li, Z., Zhang, Z.-J., & Li, H.-P. (2021). Comparative Effectiveness of Midazolam, Propofol, and Dexmedetomidine in Patients With or at Risk for Acute Respiratory Distress Syndrome: A Propensity Score-Matched Cohort Study. *Frontiers in Pharmacology*, *12*, 1-9. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.614465

Hu, A. M., Shan, Z. M., Zhang, Z. J., & Li, H. P. (2021). Comparative Efficacy of Fentanyl and Morphine in Patients with or At Risk for Acute Respiratory Distress Syndrome: A Propensity Score-Matched Cohort Study. *Drugs R D*, *21*(2), 149-155. https://doi.org/10.1007/s40268-021-00338-3

Kalil, A. C., Metersky, M. L., Klompas, M., Muscedere, J., Sweeney, D. A., Palmer, L. B., Napolitano, L. M., O'Grady, N. P., Bartlett, J. G., Carratalà, J., El Solh, A. A., Ewig, S., Fey, P. D., File, T. M., Jr., Restrepo, M. I., Roberts, J. A., Waterer, G. W., Cruse, P., Knight, S. L., & Brozek, J. L. (2016). Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis*, *63*(5), e61-e111. https://doi.org/10.1093/cid/ciw353

Katu, S., Suwarto, S., Herdiman, P., & Abdullah, M. (2017). Faktor-Faktor yang Mempengaruhi keberhasilan Terapi Antibiotik Empirik pada Pasien Sepsis Berat dan Syok Sepsis di Bangsal

Rawat Inap Penyakit Dalam Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, *2*(2), 96. https://doi.org/10.7454/jpdi.v2i2.72

Lee, S. H., Hsu, T. C., Lee, M. G., Chao, C. C., Lee, W. C., Lai, C. C., & Lee, C. C. (2018). Nationwide Trend of Sepsis: A Comparison Among Octogenarians, Elderly, and Young Adults. *Crit Care Med*, *46*(6), 926-934. https://doi.org/10.1097/ccm.0000000000003085

Levy, M. M., Evans, L. E., & Rhodes, A. (2018). The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. *Intensive Care Med*, *44*(6), 925-928. https://doi.org/10.1007/s00134-018-5085-0

Manik, M. P., Asdie, R.H. and Puspitasari, I. (2020). Evaluation of Empirical AntibioticUsage and Cost Analysis of Patients with Nosocomial Pneumonia in ICU of RSUP Dr. Sardjito, Yogyakarta. *Indonesian Journal of Pharmacology and Therapy*, *1*(2). https://doi.org/https://doi.org/10.22146/ijpther.573

Martin-Loeches, I., Guia, M. C., Vallecoccia, M. S., Suarez, D., Ibarz, M., Irazabal, M., Ferrer, R., & Artigas, A. (2019). Risk Factors for Mortality in Elderly and Very Elderly Critically Ill Patients with Sepsis: A Prospective, Observational, Multicenter Cohort Study. *Ann Intensive Care*, *9*(1), 26. https://doi.org/10.1186/s13613-019-0495-x

Metlay, J. P., Waterer, G. W., Long, A. C., Anzueto, A., Brozek, J., Crothers, K., Cooley, L. A., Dean, N. C., Fine, M. J., Flanders, S. A., Griffin, M. R., Metersky, M. L., Musher, D. M., Restrepo, M. I., & Whitney, C. G. (2019). Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. *Am J Respir Crit Care Med*, *200*(7), e45-e67. https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1581ST

Nainggolan, J. J., Kumaat, L.T. and Laihad, M.L. (2017). Gambaran Sumber terjadinya Infeksi pada Penderita Sepsis dan Syok Septik di ICU RSUP Prof . Dr . R . D . Kandou Manado *Jurnal e-Clinic*, 3-7.

Prebil, S., Esper, A., & Martin, G. (2011). Comorbidity and Outcomes In Severe Sepsis. *Journal of General Internal Medicine*, *26*, A4676-A4676. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2011.183.1_MeetingAbstracts.A4676

Rhodes, A., Evans, L. E., Alhazzani, W., Levy, M. M., Antonelli, M., Ferrer, R., Kumar, A., Sevransky, J. E., Sprung, C. L., Nunnally, M. E., Rochwerg, B., Rubenfeld, G. D., Angus, D. C., Annane, D., Beale, R. J., Bellinghan, G. J., Bernard, G. R., Chiche, J. D., Coopersmith, C., De Backer, D. P., French, C. J., Fujishima, S., Gerlach, H., Hidalgo, J. L., Hollenberg, S. M., Jones, A. E., Karnad, D. R., Kleinpell, R. M., Koh, Y., Lisboa, T. C., Machado, F. R., Marini, J. J., Marshall, J. C., Mazuski, J. E., McIntyre, L. A., McLean, A. S., Mehta, S., Moreno, R. P., Myburgh, J., Navalesi, P., Nishida, O., Osborn, T. M., Perner, A., Plunkett, C. M., Ranieri, M., Schorr, C. A., Seckel, M. A., Seymour, C. W., Shieh, L., Shukri, K. A., Simpson, S. Q., Singer, M., Thompson, B. T., Townsend, S. R., Van der Poll, T., Vincent, J. L., Wiersinga, W. J., Zimmerman, J. L., & Dellinger, R. P. (2017). Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Crit Care Med*, *45*(3), 486-552. https://doi.org/10.1097/ccm.0000000000002255

Sari, E., Rumende, C., & Harimurti, K. (2017). Faktor–Faktor yang Berhubungan dengan Diagnosis Pneumonia pada Pasien Usia Lanjut. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, *3*(4), 183. https://doi.org/10.7454/jpdi.v3i4.51

Singer, M., Deutschman, C. S., Seymour, C. W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., Bellomo, R., Bernard, G. R., Chiche, J. D., Coopersmith, C. M., Hotchkiss, R. S., Levy, M. M., Marshall, J. C., Martin, G. S., Opal, S. M., Rubenfeld, G. D., van der Poll, T., Vincent, J. L., & Angus, D. C. (2016). The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama*, *315*(8), 801-810. https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287

Ternavasio-de la Vega, H. G., Castaño-Romero, F., Ragozzino, S., Sánchez González, R., Vaquero-Herrero, M. P., Siller-Ruiz, M., Spalter-Glicberg, G., Ramírez-Baum, C., Rodríguez-Rodríguez, S., García-Sánchez, J. E., García-García, I., & Marcos, M. (2018). The updated Charlson Comorbidity Index is A Useful Predictor of Mortality in Patients with Staphylococcus aureus bacteraemia. *Epidemiol Infect*, *146*(16), 2122-2130. https://doi.org/10.1017/s0950268818002480

Wernly, B., Bruno, R. R., Mamandipoor, B., Jung, C., & Osmani, V. (2021). Sex-specific Outcomes and Management in Critically Ill Septic Patients. *Eur J Intern Med*, *83*, 74-77. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2020.10.009

Whiles, B., Deis, A., Miller, P., & Simpson, S. (2016). Comorbid Conditions Predict Outcomes in Patients With Severe Sepsis. *Chest*, *149*, A170. https://doi.org/10.1016/j.chest.2016.02.176

Xu, J., Tong, L., Yao, J., Guo, Z., Lui, K. Y., Hu, X., Cao, L., Zhu, Y., Huang, F., Guan, X., & Cai, C. (2019). Association of Sex With Clinical Outcome in Critically Ill Sepsis Patients: A Retrospective Analysis of the Large Clinical Database MIMIC-III. *Shock*, *52*(2), 146-151. https://doi.org/10.1097/shk.0000000000001253

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 101-109
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Antibacterial activity of the combination of *Mentha spicata* and *Allium sativum* extracts on the growth of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates

Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak *Mentha spicata* dan *Allium sativum* terhadap pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* isolat klinik

Yunan Jiwintarum[1], Maruni Wiwin Diarti[1], I Gede Angga Adnyana[2], Hady Anshory Tamhid[3]*

[1]Jurusan Analis Kesehatan, Poltekes Kemenkes Mataram
[2]Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Al-Azhar Mataram
[3]Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Islam Indonesia

*_Corresponding author_: hadyanshory@uii.ac.id

Abstract

Background: Tuberculosis (TB) is a disease with a high mortality rate in the world, including in Indonesia. In addition, the problem of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to antibiotics is getting higher. Mint leaves and garlic have been shown its the ability to kill *M. tuberculosis*. However, it has never been studied how the combined effect the *M. tuberculosis* growth.
Objective: The major objective of this study was to investigate the anti-mycobacterial activity of mint leaves-garlic combination to growth inhibition of clinical culture *M. tuberculosis*.
Method: Extraction of mint leaves and garlic was carried out by maceration using ethanol as a solvent. *M. tuberculosis* cultures were obtained from clinical samples of patients diagnosed with new tuberculosis (TBB) and MDR- tuberculosis (TBB). The growth inhibition activity test was carried out using the agar dilution method on Lowenstein Jensen (LJ) media.
Results: Mint and garlic extracts, and their combination can inhibit the growth of *M*. *tuberculosis* clinical culture from TBB and TBM patients with minimal inhibitory concentration (MIC) of 3 mg/mL.
Conclusion: Mint and garlic extracts, and their combination are effective in inhibiting the growth of *M. tuberculosis* clinical culture and can be used as an alternative treatment for tuberculosis disease
Keywords: mint leaves (*Mentha spicata*), garlic (*Allium sativum*), Mycobacterium tuberculosis, multidrug-resistant (MDR)-Tuberculosis

Intisari

Latar belakang: Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi di dunia, termasuk Indonesia. Selain itu, masalah resistensi bakteri terhadap antibiotik semakin tinggi. Daun mint (*Mentha spicata*) dan bawang putih (*Allium sativum*) telah terbukti dapat membunuh bakteri *M. tuberculosis*. Namun belum pernah diteliti bagaimana efek kombinasi keduanya dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*.
Tujuan: Mengetahui aktivitas kombinasi ekstrak daun mint dan bawang putih dalam menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* isolat klinik.
Metode: Ekstraksi daun mint dan bawang putih dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut ethanol. Bakteri uji *M. tuberculosis* diperoleh dari sampel klinik pasien terdiagnosis tuberkulosis baru (TBB) dan tuberkulosis *multidrug resistant* (TBB). Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan dilakukan menggunakan metode dilusi padat pada media Lowenstein Jensen (LJ).
Hasil: Ekstrak daun mint dan bawang putih serta kombinasi keduanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* isolat klinik dari pasien TBB maupun TBM dengan konsentrasi terkecil 3 mg/mL.

Kesimpulan: Ekstrak daun mint dan bawang putih serta kombinasi keduanya efektif menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* isolat klinik dan berpotensi untuk digunakan sebagai alternatif pengobatan tuberculosis.
Kata kunci: daun mint (*Mentha spicata*), bawang putih (*Allium sativum*), *Mycobacterium tuberculosis*, multidrug-resistant (MDR)-TB

1. Pendahuluan

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri yang menyebabkan tuberkulosis. Kasus tuberkulosis paru (TB-Paru) mencakup 80% dari keseluruhan kejadian penyakit tuberkulosis, sedangkan 20% merupakan tuberkulosis ekstrapulmonar. TB paru menjadi masalah kesehatan global, penyebab infeksi jutaan penduduk setiap tahun dan menempati peringkat kedua penyebab kematian karena penyakit infeksi di dunia setelah HIV-AIDS. Secara global pada tahun 2016 terdapat 10,4 juta kasus insiden TB (CI 8,8 juta – 12, juta) yang setara dengan 120 kasus per 100.000 penduduk. Jumlah kasus baru TB di Indonesia sebanyak 420.994 kasus pada tahun 2017. Indonesia termasuk negara ke-empat insiden TB paru tertinggi didunia (Pusdatin-Kemenkes, 2018).

Hasil pelaksanaan program DOTS (*Directed Observed Treatment Serves*) untuk penanggulangan kasus tuberkulosis masih belum terlaksana secara optimal karena pasien tidak konsisten dalam pengobatan, sehingga sering terhenti sebelum pengobatan tuntas. Dampak lain yang ditimbulkan oleh pengobatan tuberkulosis dalam jangka waktu yang lama ini adalah timbulnya gejala-gejala mual, pusing dan gejala-gejala klinik lainnya sehingga pasien tidak mau melanjutkan pengobatan. Putus obat karena ketidak patuhan ini menyebabkan semakin luasnya kasus MDR (Nindrea dkk., 2020). Mengingat dampak klinik yang ditimbulkan dari pengobatan kasus TB, maka perlu dieksplorasi dengan membuat formulasi dari bahan – bahan alam yang secara literatur telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*, seperti daun mint dan bawang putih.

Daun mint (*Mentha spicata*) diketahui memiliki berbagai efek pada penyakit yang terkait saluran pernapasan. Salah satunya adalah kemampuannya untuk melegakan tenggorokan dan melancarkan pernapasan (Kristinawati dkk., 2020). Penelitian juga menemukan bahwa tanaman mint memiliki efek anti-bakteri. Efek anti-bakteri yang dimiliki oleh daun mint didasari oleh kandungan antioksidan yang dimilikinya (Park dkk., 2019). Penelitian yang dilakukan Maham, dkk (2011) menunjukan bahwa ekstrak etanol daun mint (*M. spicata* dan *M. piperita*) memiliki efek anti-bakteri dengan kemampuan menghambat perumbuhan bakteri dari genus *Mycobacterium* (*M. bovis*) pada media dibandingkan dengan isoniazid. Penelitian tersebut menunjukan bahwa ekstrak daun

mint dapat digunakan sebagai alternatif bahan obat untuk menangani infeksi bakteri *M. bovis* sebagi etiologi TB (Park dkk., 2019).

Selain daun mint, bawang putih (*Allium sativum*) juga merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dijadikan sebagai obat tradisional. Pada tahun 1996, Reuter, dkk menemukan bahwa bawang putih memiliki berbagai sifat atau efek biologis seperti efek antimikroba, anti kanker, antioksidan, imunomodulator, anti-inflamasi, hipoglikemik, dan anti *cardiovascular effect* (Reuter dkk., 1996). Bawang putih juga telah lama diketahui memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri tuberkulosis (Gigantesco dan Giuliani, 2011). Penelitian menunjukan bahwa bawang putih dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis,* bahkan isolat MDR sekalipun. Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan Hannan, dkk (2011) yang menunjukan bahwa ekstrak etanol (teknik maserasi) bawang putih (*A. sativum*) dapat menghambat pertumbuhan isolat klinis bakteri *M. tuberculosis* baik dengan *Multi Drug Resistance* (MDR) maupun Non-MDR (Hannan dkk., 2011).

Kemampuan bawang putih (*A. sativum*) dan daun mint (*M. spicata*) dalam beberapa penelitian hanya terbatas pada pembuktian kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*, namun belum ada penelitian yang mengeksplorasi efek kombinasi dari kedua bahan alam ini, karena bukan tidak mungkin akan menghasilkan sinergisme efek dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan koloni *M. tuberculosis*. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* dengan pemberian kombinasi ekstrak daun mint (*M. spicata*) dan bawang putih (*A. sativum*). Dari penelitian ini diharapkan dapat menemukan kombinasi bahan baku fitofarmaka berasal dari alam yang dapat digunakan sebagai kandidat penanggulangan dan pengobatan tuberculosis.

2. Metode

2.1. Bahan penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mint (DM) yang diperoleh di daerah Yogyakarta, serta bawang putih (BP) varietas Nunggal sembalun Lombok Timur yang diperoleh dari daerah Lombok Timur, NTB. Waktu pengambilan sampel antara bulan Maret-April 2021. Sedangkan bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *M. tuberculosis* isolat klinik yang diperoleh dari wilayah puskesmas dengan data kasus TBC terbanyak di kota Mataram. Kriteria sampel adalah berasal dari pasien yang terdiagnosis positif TBC baru (TBB) dan positif TBC-MDR (TBM) dengan hasil mikroskopis BTA positif 3 atau 4. Bahan lain dalam penelitian ini adalah media pertumbuhan Lowenstein Jensen (LJ), pelarut ethanol 70%, dan Dimetilsulfo Oksida (DMSO) 10%.

2.2. Ekstraksi dan preparasi sampel kombinasi daun mint dan bawang putih

Proses ekstraksi daun mint dan bawang putih dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut ethanol 70%. Sebanyak masing-masing 150 gram simplisia daun mint dan 1 kg bawang putih yang telah dikeringkan dalam *cabinet dryer* suhu 50°C diekstraksi selama 24 jam dengan sesekali diaduk. Cairan hasil ekstraksi (maserat) yang diperoleh disaring menggunakan penyaring *Buchner*, selanjutnya diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan putaran 90 rpm dan tekanan vakum mencapai 100 mbar sampai seluruh pelarut menguap dan diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan sampel kombinasi ekstrak daun mint dengan bawang putih dilakukan pada konsentrasi 3, 6, dan 12 mg/mL. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah larutan DMSO 10%. Jumlah sampel yang diperoleh dari 3 variasi konsentrasi dan 5 variasi rasio kombinasi ekstrak daun mint dan bawang putih adalah sebanyak 15 sampel. Adapun rasio perbandingan kombinasi dan kode sampel yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kode sampel dan rasio perbandingan kombinasi ekstrak daun mint dan bawang putih

Kode sampel	Rasio kombinasi pada kadar: 3 mg/mL		Kode sampel	Rasio kombinasi pada kadar: 6 mg/mL		Kode sampel	Rasio kombinasi pada kadar: 12 mg/mL	
	Daun mint	Bawang putih		Daun mint	Bawang putih		Daun mint	Bawang putih
DM-3	1	0	DM-6	1	0	DM-12	1	0
DM-BP 3-21	2	1	DM-BP 6-21	2	1	DM-BP 12-21	2	1
DM-BP 3-11	1	1	DM-BP 6-11	1	1	DM-BP 12-11	1	1
DM-BP 3-12	1	2	DM-BP 6-12	1	2	DM-BP 12-12	1	2
BP-3	0	1	BP-6	0	1	BP-12	0	1

2.3. Pembuatan media pertumbuhan Lowenstein Jensen (LJ)

Medium *Loweinstein – Jensen* di timbang 37,3 gram, kemudian dilarutkan dalam 600 mL aquadest yang mengandung 12 mL glycerol, dipanaskan sampai medium larut dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebanyak 1000 mL suspensi telur dicampurkan kedalam 600 mL media *Loweinstein – Jensen* steril pada suhu 50 – 60°C. Selanjutnya dimasukkan dalam tabung – tabung steril masing-masing sebanyak 7 mL. Media di miringkan dalam oven pada suhu 85°C selama 45 menit. Kemudian oven dimatikan dan media dibiarkan dingin sampai terbentuk media agar miring dalam tabung.

2.4. Preparasi dan inokulasi bakteri uji dari sampel sputum pasien tuberkulosis

Bakteri uji *M. tuberkulosis* diperoleh dari sampel sputum pasien yang terdiagnosis positif tuberkulosis. Sampel merupakan isolat klinik yang di dapatkan dari wilayah Puskesmas dengan data kasus TBC terbanyak di Kota Mataram. Kriteria semua Isolat klinik *M. tuberculosis* berasal dari semua pasien yang terdiagnosis TBC paru baru (TBB) atau TBC-MDR (TBM). Teknik pengambilan sampel menggunakan *consecutive sampling* mulai bulan April – Juli 2021. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 sampel yang berasal dari 5 sampel pasien TBB dan 5 sampel pasien TBM.

Sebelum dilakukan inokulasi bakteri uji pada media, sampel sputum dihomogenisasi terlebih dahulu menggunakan metode NaOH 4%. Sepuluh sampel sputum masing-masing ditambahkan dengan 4 bagian NaOH 4%. Dihomogenkan menggunakan vortex selama 15 menit. Endapkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatant dibuang, kemudian endapan ditambahkan dengan buffer phosphate (pH 6,8), selanjutnya disentrifugasi kembali selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Hal ini dilakukan sebanyak 3x sampai tercapai pH netral. Endapan yang diperoleh diinokulasikan kedalam media LJ dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 8 minggu.

2.5. Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri uji

Metode uji aktivitas penghambatan menggunakan metode dilusi padat. Satu mL suspensi bakteri M.tuberculosis hasil inokulasi (TBB dan TBM) dengan kekeruhan satu unit McFarland dicampurkan dengan 1 mL sampel uji berbagai variasi konsentrasi dan rasio kombinasi ekstrak daun mint dan bawang putih (15 sampel). Selanjutnya dibiakkan kedalam media LJ dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 8 minggu. Diamati pertumbuhan bakteri yang terjadi kemudian dianalisis hasil yang diperoleh.

3. Hasil dan pembahasan

Berdasarkan hasil uji penghambatan pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* pada tabel 2, bahwa seluruh sampel uji yang digunakan yaitu ekstrak daun mint dan bawang putih serta kombinasi keduanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji baik bakteri isolat yang berasal dari pasien TBB maupun bakteri uji yang berasal dari pasien TBM. Jumlah bakteri uji isolat klinik yang digunakan berasal dari 5 pasien TBB dan 5 pasien TBM. Seluruh hasil uji menunjukkan hasil yang sama, bahwa seluruh sampel uji menghambat pertumbuhan bakteri isolat klinik dari 10 pasien yang digunakan (Tabel 2). Hal tersebut terbukti dari hasil uji setelah diinkubasi selama 8 minggu tidak menunjukkan

adanya pertumbuhan koloni (negatif). Sedangkan kontrol bakteri yang tidak diberikan sampel ekstrak menunjukkan pertumbuhan (positif). Sampel uji ekstrak daun mint dengan konsentrasi yang paling kecil yaitu 3 mg/mL(DM-3) sudah menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri uji. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Sheeba (2015) yang melaporkan bahwa ekstrak daun mint dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* menggunakan metode difusi dengan diameter zona hambat 8 mm (Sheeba dkk., 2015). Disamping itu ekstrak daun mint juga dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. bovis* yang merupakan satu genus dengan *M. tuberculosis*. Aktivitas penghambatan ekstrak daun mint terhadap *M. bovis* diketahui dengan kadar hambat minimal mencapai 0,39 mg/mL.

Tabel 2. Hasil uji penghambatan kombinasi ekstrak daun mint dan bawang putih terhadap pertumbuhan *M. tuberculosis* isolat klinik dari pasien TBB dan TBM

No	Sampel uji	Hasil pertumbuhan *M. tuberculosis* isolat klinik	
		Isolat pasien TBB	Isolat pasien TBM
1	DM-3	(-)	(-)
2	DM-BP 3-21	(-)	(-)
3	DM-BP 3-11	(-)	(-)
4	DM-BP 3-12	(-)	(-)
5	BP-3	(-)	(-)
6	DM-6	(-)	(-)
7	DM-BP 6-21	(-)	(-)
8	DM-BP 6-11	(-)	(-)
9	DM-BP 6-12	(-)	(-)
10	BP-6	(-)	(-)
11	DM-12	(-)	(-)
12	DM-BP 12-21	(-)	(-)
13	DM-BP 12-11	(-)	(-)
14	DM-BP 12-12	(-)	(-)
15	BP-12	(-)	(-)
16	Kontrol aquades	(-)	(-)
17	Kontrol bakteri *M. tuberculosis*	(+)	(+)

Keterangan:
DM = Daun mint
BP = Bawang putih
(-) = tidak ada pertumbuhan *M. tuberculosis*
(+) = terdapat perumbuhan *M. tuberculosis*

Disisi lain, ekstrak bawang putih juga diketahui memiliki aktivitas terhadap *M. tuberculosis*. Pada konsentrasi 40 mg/mL ekstrak etanol bawang putih dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* sebesar 63% (Singh, 2010). Sedangkan pada penelitian yang lain diketahui kadar hambat minimal ekstrak bawang putih yang dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* adalah 3 mg/mL (Hannan dkk., 2011). Dengan konsentrasi tersebut ekstrak bawang putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* dan jenis *M. tuberculosis* resisten berbagai antibiotik. Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak bawang putih tunggal sebesar 3-12 mg/mL menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis.*

Kombinasi ekstrak daun mint dan bawang putih yang digunakan dalam penelitian ini juga menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*. Oleh karena seluruh sampel, baik tunggal maupun kombinasi, yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* maka sulit ditetapkan kombinasi yang paling optimal antara daun mint dan bawang putih. Namun demikian hasil ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak yang digunakan memiliki aktivitas yang tinggi dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*.

Kandungan senyawa aktif dalam ekstrak daun mint yang diketahui memiliki aktivitas anti bakteri adalah senyawa-senyawa asam fenolat, flavonoid dan minyak atsiri. Senyawa ini terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri dengan berbagai mekanisme, seperti merusak membran sel bakteri, mengganggu sintesis DNA dan protein, menganggu metabolisme sel, menyebabkan koagulase sitoplasma, dan mengganggu komunikasi intraseluler (Tamhid dkk., 2015). Sedangkan di dalam ekstrak bawang putih terdapat senyawa allicin yang diketahui paling bertanggung jawab dalam aktivitasnya sebagai antibakteri, termasuk terhadap bakteri *M. tuberculosis* (Muniyan dan Jayaraman, 2016). *Allicin* diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui interaksi dengan enzim yang mengandung gugus *thiol* seperti *thioredoxin reductase*, *RNA polymerase*, dan *alcohol dehydrogenase* (Batiha dkk., 2020). Selain *allicin*, senyawa golongan *sulfhydryl*, ekstrak bawang putih juga mengandung senyawa *alliin*, *ajoene*, dan *allyl sulfide* yang juga memiliki aktivitas sebagai anti bakteri (Martins dkk., 2016). Selain senyawa-senyawa golongan *sulfhydryl*, ekstrak bawang putih juga diketahui mengandung senyawa asam laurat dan myristat yang aktif sebagai antibakteri terhadap *M. tuberculosis*. Mekanisme aksi senyawa asam laurat dan myristat dari ekstrak bawang putih ini diketahui dengan cara berikatan pada protein kinase B sehingga menghambat sinyal transduksi dari bakteri yang berakibat pada penghambatan pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* (Muniyan dan Jayaraman, 2016).

4. Kesimpulan

Kombinasi ekstrak daun mint dan bawang putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*. Dosis terendah dari ekstrak tunggal dan kombinasinya yaitu 3 mg/mL telah menunjukkan hambatan pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mint dan bawang putih serta kombinasinya memiliki potensi yang cukup besar sebagai alternativ anti-tuberkulosis alami. Namun demikian untuk menentukan rasio optimal kombinasi antara ekstrak daun mint dan bawang putih dalam menghambat perumbuhan *M. tuberculosis* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan konsentrasi yang lebih rendah.

Ucapan terimakasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Kementrian Kesehatan Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Poltekkes Kemenkes dengan skema Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT).

Daftar pustaka

Batiha, G.E.S., Beshbishy, A.M., Wasef, L.G., Elewa, Y.H.A., Al-Sagan, A.A., El-Hack, M.E.A., dkk., 2020. Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. *Nutrients*, 12: 1–21.

Gigantesco, A. dan Giuliani, and M., 2011. The potential role of garlic (*Allium sativum*) against the multi-drug resistant tuberculosis pandemic: a review. *Ann Ist Super Sanità*, 47: 363–372.

Hannan, A., Ullah, M.I., Usman, M., Hussain, S., Absar, M., dan Javed, K., 2011. Anti-mycobacterial activity of garlic (*Allium sativum*) against multi-drug resistant and non-multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24: 81–85.

Kristinawati, B., Muryadewi, A., dan Irianti, A.D., 2020. The role of family as a caregiver in caring for family members that are suffering from pulmonary tuberculosis. *Jurnal Ners*, 14: 362.

Martins, N., Petropoulos, S., dan Ferreira, I.C.F.R., 2016. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: a review. *Food Chemistry*, 211: 41–50.

Muniyan, R. dan Jayaraman, G., 2016. Lauric acid and myristic acid from *Allium sativum* inhibit the growth of *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra: in silico analysis reveals possible binding to protein kinase B. *Pharmaceutical Biology*, 54: 2814–2821.

Nindrea, R.D., Sari, N.P., Harahap, W.A., Haryono, S.J., Kusnanto, H., Dwiprahasto, I., dkk., 2020. Survey data of multidrug-resistant tuberculosis, tuberculosis patients characteristics and stress resilience during COVID-19 pandemic in West Sumatera Province, Indonesia. *Data in Brief*, 32

Park, C.H., Yeo, H.J., Baskar, T.B., Park, Y.E., Park, J.S., Lee, S.Y., dkk., 2019. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of flower, leaf, and stem extracts of Korean mint. *Antioxidants*, 8: 1–12.

Pusdatin-Kemenkes, 2018. *Infodatin Tuberkulosis*.

Reuter, H., Koch, L., dan Lawson, L., 1996. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations, dalam: g*arlic. the science and therapeutic application of Allium sativum L. and*

related species. William and Wilkins, Baltimore.

Sheeba, G., Gomathi, K.S., dan Citarasu, T., 2015. Anti-mycobacterial and phytochemical investigation of methanol extracts of few medicinal plants. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 8: 480–486.

Tamhid, H.A., Wahyuono, S., dan Hertiani, T., 2015. Aktivitas antibakteri senyawa isolat daun Mundu (*Garcinia dulcis*) terhadap bakteri patogen. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, *11*(2):30-37.

Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) 18(1) Januari-Juli 2022, 110-122
ISSN: 1693-8666
available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

The role of Short Chain Fatty Acids (SCFAs) in the incidence of hypertension

Peran *Short Chain Fatty Acids* (SCFAs) terhadap kejadian hipertensi

Agus Sulaeman, Puput Novriana*, Marita Kaniawati

Universitas Bhakti Kencana Bandung
**Corresponding author*: puputnovriana@gmail.com

Abstract

Background: Hypertension is a persistently elevated arterial blood pressure called the silent killer because sufferers often do not show signs and symptoms. Low Short Chain Fatty Acids (SCFA) is a risk factor for hypertension. Therefore, many efforts have been made in overcoming hypertension through the role of SCFA.
Objective: This review article was conducted to see the SCFA mechanism against the incidence of hypertension so that it is hoped that we can find medicinal plants that can prevent and treat hypertension.
Method: This article is compiled based on a review of several works of literature related to the role of SCFA in hypertension from articles published in the electronic database.
Results: The SCFA mechanism is involved in lowering blood pressure through G-protein coupled receptors (GPCRs). Acetate binding to GPR43 causes hyperpolarization of the colonic epithelium, propionate activates GPR41 signals located in the vascular endothelium and butyrate binds to GPR109a and exerts anti-inflammatory effects. It was also found that giving baicalin and olive oil was shown to increase SCFA-producing bacteria.
Conclusion: The role of SCFA in the development of hypertension occurs through the mechanism of diffusion and transport of solutes from SCFA which then activates GPCRs including GPR43, GPR41, and GPR109a so that they have a vasodilating effect by reducing inflammation, improving intestinal permeability, decreasing sympathetic nerve activity, and increasing Treg cells.
Keywords: gut microbiota; SCFA; hypertension

Intisari

Latar belakang: Hipertensi adalah tekanan darah arteri yang meningkat secara persisten disebut juga silent killer karena penderita sering tidak menampakkan tanda dan gejala. Rendahnya *Short Chain Fatty Acids* (SCFA) menjadi faktor risiko dari hipertensi. Oleh karena itu, telah banyak upaya yang dilakukan dalam mengatasi hipertensi melalui peran SCFA.
Tujuan: Review artikel ini dilakukan untuk melihat mekanisme SCFA terhadap kejadian hipertensi sehingga diharapkan dapat mencari tanaman obat yang dapat mencegah dan mengobati hipertensi.
Metode: Artikel ini disusun berdasarkan review beberapa literatur yang terkait peran SCFA dalam hipertensi dari artikel yang diterbitkan di *electronic database.*
Hasil: Mekanisme SCFA yang terlibat dalam penurunan tekanan darah melalui *G-protein coupled receptors* (GPCRs). Asetat mengikat GPR43 menyebabkan hiperpolarisasi epitel kolon, propionat mengaktifkan sinyal GPR41 yang terletak di endotel vaskuler dan butirat mengikat GPR109a memberikan efek anti-inflamasi.
Kesimpulan: Peran SCFA dalam perkembangan hipertensi terjadi melalui mekanisme adanya difusi dan transport zat terlarut dari SCFA yang kemudian mengaktivasi GPCR termasuk GPR43, GPR41 dan GPR109a sehingga memberikan efek vasodilatasi dengan menurunkan inflamasi, memperbaiki permeabilitas usus, menurunkan aktivitas saraf simpatis dan meningkatkan sel Treg.
Kata kunci: mikrobiota usus; SCFA; hipertensi

1. Pendahuluan

Hipertensi termasuk penyakit tidak menular dan menjadi masalah kesehatan dunia. Tanda hipertensi salah satunya yakni meningkatnya tekanan darah secara persisten. Hipertensi disebut sebagai *silent killer* atau pembunuh diam-diam, dimana penderita hipertensi sering tidak memperlihatkan tanda gejala (Roshifanni, 2016). Hipertensi adalah meningkatnya tekanan darah arteri secara persisten yang ditandai dengan peningkatan tekanan darah sistolik ≥130 mmHg dan peningkatan tekanan darah diastolik ≥80 mmHg (DiPiro *et al.,* 2020). Pada tahun 2015 orang dewasa dengan hipertensi meningkat dibandingkan tahun 1975 yakni dari 594 juta jiwa menjadi 1,3 miliar (WHO, 2015). Di Indonesia, hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2018, penduduk usia ≥18 tahun dengan hipertensi meningkat dibandingkan tahun 2013 yakni dari 25,8% menjadi 34,1% (Kemenkes RI, 2018).

Klasifikasi hipertensi berdasarkan etiologi dibedakan menjadi dua, yaitu hipertensi primer (*esensial*) dan hipertensi sekunder. Hipertensi primer (*esensial*), merupakan kondisi orang dengan tekanan darah tinggi yang tidak diketahui penyebabnya, dimana terdapat 95% kasus didunia. Faktor genetik dan lingkungan dapat mempengaruhi tekanan darah. Faktor lingkungan termasuk kelebihan asupan garam, obesitas dan aktivitas yang kurang. Beberapa faktor yang terkait secara genetik dapat mencakup aktivitas yang tinggi pada saraf simpatis (Weber *et al.,* 2014). Hipertensi sekunder berkaitan dengan jumlah kasus lebih sedikit sebesar 5% dimana penyebab tekanan darah tinggi dapat diidentifikasi termasuk penyakit ginjal kronis dan sekresi aldosteron yang berlebih (Weber *et al.,* 2014). Adanya interaksi antara faktor gaya hidup dan genetik disebabkan karena kurangnya kegiatan fisik, merokok, pola makan tidak seimbang dan berlebihan dalam konsumsi alkohol (Calderón-pérez *et al.,* 2020).

Peningkatan aktivitas saraf simpatis ke usus dapat menyebabkan disbiosis, peningkatan permeabilitas usus dan inflamasi yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan bakteri penghasil SCFA (Toral *et al.,* 2019). Perubahan komposisi mikrobiota usus dapat menyebabkan disbiosis mikrobiota usus yang dapat meningkatkan tekanan darah (Battson *et al.,* 2018). Disbiosis usus telah dikaitkan dengan penyakit kardiovaskuler, sindrom metabolik, aterosklerosis, obesitas, hipertensi, gagal jantung, penyakit ginjal kronis, diabetes melitus tipe 2 dan ginjal kronis (Callejo *et al.,* 2018). Baru-baru ini, telah dibuktikan adanya ketidakseimbangan mikrobiota usus berpengaruh terhadap tekanan darah tinggi yang

dilakukan Mell *et al.,* (2015) ditemukan komposisi bakteri yang berbeda pada hewan uji sensitif garam dan tahan garam.

Mikrobiota usus penting untuk hipertensi, jantung dan aterosklerosis. Mikrobiota usus menghasilkan metabolit yang berperan sebagai mediator yang memediasi dengan inang, melalui resorpsi dan distribusi dan mempengaruhi kesehatan usus, sistem kekebalan tubuh, pembuluh darah dan penyakit jantung koroner (Bartolomaeus *et al.,* 2019). Asam lemak rantai pendek merupakan metabolit utama yang dihasilkan dari proses fermentasi serat makanan yang tidak dapat dicerna oleh tubuh di usus besar (Juanola *et al.,* 2019).

Review artikel yang spesifik membahas terkait peran SCFA terhadap hipertensi belum banyak dilakukan di negara Indonesia. Berdasarkan pertimbangan tersebut, penulis termotivasi untuk menulis ulasan artikel tentang peran SCFA terhadap perkembangan hipertensi, yang akan menjadi studi berharga untuk pertimbangan dasar dalam perawatan hipertensi dimasa depan dengan melihat mekanisme SCFA sehingga diharapkan dapat mencari tanaman obat yang dapat menurunkan tekanan darah.

2. Metode

2.1. Strategi pencarian literatur

Pencarian data dimulai dengan menggunakan *electronic database* seperti Google Scholar, JAMA, PubMed, *textbook* dan *website*. Pencarian dilakukan menggunakan 2 kriteria yaitu kriteria inklusi berupa jurnal nasional/internasional, *textbook* serta *website* yang memuat informasi terkait topik seperti *hypertension*, *SCFA and hypertension*, *gut microbiota and hypertension*, terindeks sinta/scopus dan memiliki waktu publikasi jurnal dari tahun 2010-2020. Kriteria eksklusi berupa jurnal nasional/internasional, *textbook* serta *website* yang memiliki waktu publikasi dari tahun 2010-2020 yang tidak spesifik untuk peran SCFA terhadap hipertensi, tidak terindeks sinta/scopus dan tidak memuat informasi yang diinginkan.

2.2. Tahapan pencarian literatur

Hasil pencarian diperoleh sebanyak 132 literatur yang kemudian diseleksi berdasarkan keseluruhan teks menjadi sebanyak 51 literatur. Artikel yang diperoleh tersebut kemudian diseleksi kembali, artikel yang masuk proses tahap akhir sebanyak 12 artikel yang dianggap relevan dengan topik penelitian. Kemudian analisa data pada hasil review artikel dilakukan

dengan menggunakan metode pengambilan data *Narrative Literatur Review* (NLR) yang merupakan *review paper* dengan tujuan mengidentifikasi dan meringkas beberapa studi literatur yang telah diterbitkan sebelumnya, menghindari duplikasi, dan mencari studi baru (Ferrari, 2015).

3. Hasil dan pembahasan

Review artikel ini dilakukan untuk mendapatkan informasi tambahan terkait peran SCFA terhadap kejadian hipertensi. Hasil studi literatur diperoleh 12 jurnal internasional yang melaporkan tentang adanya peran SCFA terhadap perkembangan hipertensi. Hasil kajian jurnal yang diperoleh diuraikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Jurnal yang melaporkan peran SCFA terhadap perkembangan hipertensi

No	Penulis	Sumber Artikel	Tujuan	Metode Penelitian, Subjek	Hasil/Temuan
1	Verhaar *et al.*, (2020)	Europan Society of Cardiology	Untuk menyelidiki hubungan antara mikrobiota usus, tingkat SCFA feses, dan tekanan darah tinggi diseluruh kelompok etnis	Pengukuran SCFA: HPLC TD: osilometri Subjek: manusia	Dalam total populasi, ditemukan komposisi mikrobiota usus dalam feses sebanyak 4,4% dari total varian TDS dan 4,8% dari total varian TDD. Varian yang lebih tinggi ditemukan pada subjek usia muda (5,3% untuk TDS dan TDD) dibandingkan usia tua (2,5% TDS dan 1,4% TDD),dan pada wanita (3,9% TDS dan 2,2% TDD), dibandingkan pada pria (1,8% TDS dan 0,3% TDD). Pada kelompok Belanda (4,8% TDS dan 0,4% TDD) dan kelompok etnis lainnya (<0,8% TDS dan <0,5% TDD)
2	Yang *et al.*, (2015)	Hypertension	Untuk menargetkan metabolit yang akan menjadi target baru untuk pengobatan hipertensi	Pengukuran SCFA: PCoA TD: radiotelemetri Subjek: tikus	Ditemukan penurunan bakteri penghasil asam asetat dan asam butirat pada kelompok uji hipertensi
3	Calderón-	Scientific	Untuk	Pengukuran	Ditemukan SCFA (asam

No	Penulis	Sumber Artikel	Tujuan	Metode Penelitian, Subjek	Hasil/Temuan
	pérez *et al.*, (2020)	Reports	menargetkan metabolit feses yang akan menjadi target baru untuk pengobatan hipertensi	SCFA: GCMS TD: sphygmomanometer Subjek: manusia	asetat, asam butirat dan asam propionat) yang tinggi pada feses kelompok hipertensi daripada kelompok kontrol
4	Bier *et al.*, (2018)	Nutrition	Untuk mengevaluasi diet tinggi garam mengubah komposisi mikrobiota usus dan produksi SCFA dibandingkan dengan diet biasa	Pengukuran SCFA: GCMS TD: *tail cuff* Subjek: tikus	Ditemukan asam asetat, asam propionat dan isobutirat yang tinggi dalam feses sedangkan kadar asam butirat tidak ditemukan perbedaan signifikan setelah pemberian diet tinggi garam
5	Onyszkiewicz *et al.*, (2019)	Pflügers Archiv - European Journal of Physiology	Untuk menetapkan konsentrasi fisiologis asam butirat dalam kandungan usus besar (feses)	Pengukuran SCFA: *Water Acquity* UPLC TD: Biopac system Subjek: tikus	Ditemukan asam butirat yang tinggi di usus mengaktivasi GPR41 sehingga menurunkan tekanan darah tinggi
6	Natarajan *et al.*, (2016)	Physiological Genomics	Untuk mengetahui peran dari mikrobiota usus dalam mengatur tekanan darah	Pengukuran SCFA: RT-PCR TD: radiotelemetri Subjek: tikus	SCFA (asam asetat dan asam propionat) menurunkan tekanan darah tinggi dengan mengaktivasi reseptor GPCR
7	Kaye *et al.*, (2020)	Circulation	Untuk menunjukkan bahwa kekurangan serat menyebabkan perkembangan hipertensi serta peran (GPCR)	Pengukuran SCFA: HPLC TD: *tail cuff* Subjek: tikus	Ditemukan SCFA (asam asetat, asam butirat dan asam propionat) yang tinggi dalam plasma signifikan menurunkan tekanan darah
8	Bartolomaeus *et al.,* (2019)	Circulation	Untuk mengetahui efek dari SCFA (asam propionat) terhadap hipertensi	Pengukuran SCFA: GCMS TD: *tail cuff* Subjek: tikus	Ditemukan konsentrasi asam propionat tinggi dan mengaktivasi GPR41 sehingga menurunkan tekanan darah
9	Marques *et al.*, (2017)	Circulation	Mengevaluasi efek diet tinggi serat dan pemberian asam asetat terhadap	Pengukuran SCFA: PCoA TD: *biopac system*	Ditemukan asam asetat yang tinggi dan mengaktivasi GPR43 sehingga memberikan

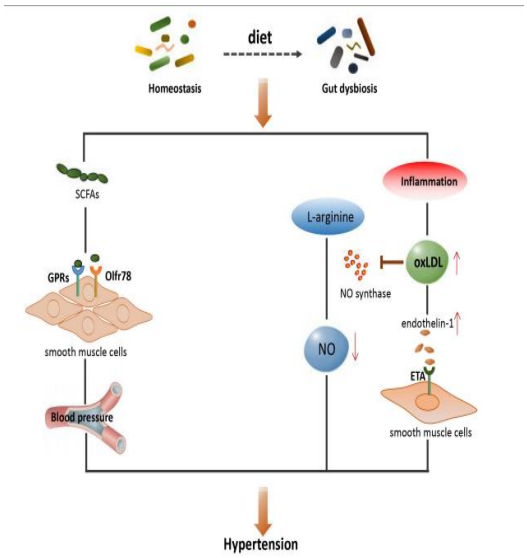
			pencegahan penyakit kardiovaskular	Subjek: tikus	efek hiperpolarisasi epitel usus
10	Hsu *et al.*, (2019)	Molecular Nutrition Food Research	Untuk memeriksa apakah SCFA (asam asetat) dapat mencegah hipertensi yang diinduksi (HFD)	Pengukuran SCFA: GCMS TD: *tail cuff* Subjek: tikus	Ditemukan asetat yang tinggi pada kelompok hipertensi yang diinduksi (HFD)
11	Wu *et al.*, (2019)	Frontiers in Pharmacology	Untuk mengetahui efek senyawa baicalin terhadap kelimpahan bakteri penghasil SCFA	Pengukuran SCFA: GCMS TD: *tail cuff* Subjek: tikus	Larutan baicalin dapat meningkatkan komposisi mikrobiota usus penghasil SCFA
12	Hidalgo *et al.*, (2018)	Plant Foods Hum Nutr	Melihat efek dari minyak zaitun pada mikrobiota usus dan tekanan darah	Pengukuran SCFA: RT-PCR TD: *tail cuff* Subjek: tikus	Diet minyak zaitun terbukti meningkatkan kelimpahan mikrobiota usus penghasil SCFA

Keterangan: GCMS (*Gas Chromatography Mass Spectroscopy*); GPCR (*G Protein Coupled Receptors*); TD (Tekanan darah); TDD (Tekanan Darah Diastolik); TDS (Tekanan Darah Sistolik); HFD (*High Fructosa Diet*); HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*); PCoA (*Principal Component of Analysis*)

Hipertensi adalah penyakit tidak menular. Penyakit ini merupakan salah satu penyebab terjadinya morbiditas dan mortalitas (Hsu *et al.,* 2019). Hipertensi banyak berkembang di negara berpenghasilan menengah hingga rendah dengan tingkat kesadaran, pengobatan dan kontrol yang juga lebih rendah (Scholes *et al.,* 2020).

Komposisi mikrobiota usus dipengaruhi oleh faktor internal termasuk genotipe, usia dan faktor eksternal seperti diet, prebiotik dan antibiotik (Chen *et al.,* 2014). Salah satu peran mikrobiota usus adalah untuk mengkatabolisme serat makanan yang tidak dapat dicerna di saluran pencernaan (Kasubuchi *et al.,* 2015). Mikrobiota usus menghasilkan metabolit unik yang berpotensi penting dalam pengendalian tekanan darah tinggi (Richards *et al.*, 2017).

Disbiosis dapat meningkatkan ekspresi sitokin pro-inflamasi dan menginduksi stress oksidatif, yang dapat merangsang oksidasi LDL (Ox-LDL) (Ma & Li, 2018). *Low-densitylipoprotein* (LDL) yang teroksidasi (Ox-LDL) dapat menghambat produksi *nitric oxide* (NO) sehingga menyebabkan peningkatan tekanan darah dengan penurunan *nitric oxide* (NO) dan peningkatan endotelin-1 (Node, 2019). Mekanisme ini ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Mikrobiota usus dan mekanisme hipertensi (Ma & Li, 2018)

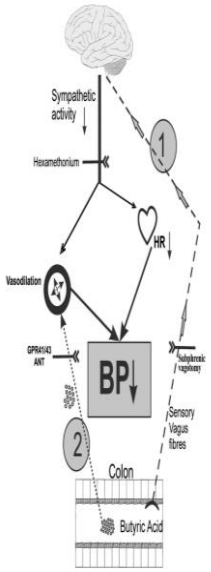
Mekanisme utama peran SCFA dalam perkembangan hipertensi masih belum jelas. Namun, banyak studi yang menunjukkan adanya perubahan mikrobiota usus dalam mempengaruhi tekanan darah. Penelitian Yang *et al.*, (2015) membuktikan bahwa disbiosis usus berhubungan dengan hipertensi yang mempengaruhi komposisi mikrobiota usus dan tekanan darah tinggi yang diinduksi angiotensin II. Pada sampel feses ditemukan bakteri yang didominasi oleh bakteri *Firmicutes, Bacteriodetes*, *Actinobacteria,* dan *Proteobacteria* dalam jumlah kecil disertai penurunan bakteri penghasil SCFA. Percobaan yang dilakukan oleh Verhaar *et al.*, (2020) menemukan bahwa perubahan komposisi mikrobiota usus berhubungan dengan tekanan darah tinggi antar kelompok etnis. Kelimpahan mikrobiota usus penghasil SCFA dikaitkan dengan tekanan darah yang lebih rendah. *Short chain fatty acids* (SCFA) memiliki efek berbeda pada tekanan darah tergantung pada reseptor yang terlibat. *Reseptor G protein coupled receptors* (GPCRs) dapat ditemukan di berbagai jaringan dan menyebabkan vasodilatasi sebagai respon terhadap asetat, propionat, dan butirat.

Penelitian yang dilakukan Calderón-pérez *et al.*, (2020) melakukan analisa SCFA dalam feses dan plasma pada kelompok hewan uji tikus. Pada feses kelompok hipertensi, kadar asam butirat asam asetat, dan asam propionat ditemukan lebih tinggi dibandingkan kelompok normal dan kontrol. Pada plasma, kelompok hipertensi ditemukan kadar asam butirat, asam asetat, dan asam propionat lebih rendah dibandingkan kelompok normal dan kontrol. Absorpsi SCFA yang kurang efisien ditandai dengan kadar SCFA pada feses yang lebih tinggi sedangkan

kadar dalam plasma lebih rendah sehingga terjadi ketidakseimbangan mikrobiota usus (Calderón-pérez *et al.*, 2020).

Penelitian yang dilakukan Bier *et al.*, (2018) menemukan bahwa model tikus *Dahl Salt Sensitive* (DSS) yang diberi diet tinggi garam berkolerasi positif terhadap tekanan darah tinggi dengan ditemukannya kadar SCFA yang tinggi (asam asetat, asam propionat dan isobutirat) dalam feses. Kadar asam butirat tidak ditemukan perubahan yang siginifikan dalam feses yang berkorelasi negatif dengan tekanan darah. Hubungan SCFA dengan tekanan darah tinggi ditunjukkan dalam penelitian sebelumnya oleh Pluznick *et al.*, (2013) yang menunjukkan adanya reseptor SCFA spesifik diginjal yang mengubah tekanan darah tinggi yaitu Olfr78.

Studi yang dilakukan oleh Onyszkiewicz *et al.*, (2019), menemukan bahwa pemberian asam butirat secara intravena memberikan efek menurunkan tekanan darah tinggi melalui dua mekanisme. Mekanisme pertama, merangsang serabut sensorik saraf vagus yang memproyeksikan ke pusat otak untuk mengendalikan peredaran darah sehingga menurunkan aktivitas saraf simpatis. Mekanisme kedua, asam butirat melewati sawar darah usus masuk ke dalam darah dan mengaktivasi GPR41/GPR43 sehingga memberikan efek vasodilatasi. Mekanisme yang terjadi ditunjukkan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme asam butirat dalam menurunkan tekanan darah tinggi (Onyszkiewicz *et al.*, 2019)

Hasil penelitian Natarajan *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa asam asetat dan asam propionat mengaktivasi sinyal GPR41 sehingga dapat menurunkan tekanan darah tinggi pada

hewan uji. Hasil serupa ditunjukkan dengan penelitian yang dilakukan Kaye *et al.*, (2020) ditemukan asam asetat memiliki efek antihipertensi paling kuat dibandingkan asam butirat dan asam propionat. Mekanisme yang terjadi pada penurunan tekanan darah tinggi adalah asam asetat yang mengikat GPR43 dalam sel T didalam epitel diusus besar yang memicu polarisasi sel T ke dalam sel Treg sehingga menurunkan tekanan darah tinggi. Asam propionat mengaktivasi mekanisme imun kardiovaskuler dengan meningkatkan jumlah sel Treg. Asam butirat mengikat GPR109a dengan menggunakan sifat antiinflamasi dalam menurunkan tekanan darah tinggi (Kaye *et al.*, 2020). Hasil ini sesuai dengan literatur bahwa GPR109a merupakan reseptor SCFA yang diaktivasi oleh asam butirat yang diekspresikan dalam membran apikal ileum dan usus besar (Cresci *et al.,* 2010). Reseptor GPR43/FFAR2 mengikat asam propionat, asam asetat, dan asam butirat yang diekspresikan di usus, hati, dan jaringan adiposa. Reseptor GPR41/FFAR3 diaktivasi oleh asam propionat dan asam butirat. GPR41 mengatur homeostasis energi dalam sel enteroendokrin, jaringan adiposa, dan sistem saraf tepi (Miyamoto *et al.*, 2019; Kasubuchi *et al.*, 2015).

Asam propionat terbukti menurunkan tekanan darah tinggi yang ditemukan pada studi yang dilakukan oleh Bartolomaeus *et al.,* (2019) di mana asam propionat memberikan efek dalam menurunkan tekanan darah tinggi pada hewan uji tikus yang diinduksi angiotensin II. *Short chain fatty acids* (SCFA) juga ditemukan dalam menurunkan tekanan darah tinggi dalam penelitian yang dilakukan Marques *et al.*, (2017) menyatakan bahwa rasio antara *Firmicutes* dan *Baceriodetes* yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan meningkatnya bakteri penghasil asam asetat (*Bacteriodes acidifaciens*) sehingga berhasil memperbaiki disbiosis usus. *Short chain fatty acids* (SCFA) bekerja diusus melalui reseptor GPR43 yang berinteraksi dengan asam asetat. Aktivasi GPR43 oleh asam asetat menyebabkan hiperpolarisasi epitel kolon. Hsu *et al.*, (2019) menyatakan bahwa hewan uji hipertensi diinduksi diet tinggi fruktosa berhubungan dengan peningkatan kadar asam asetat dalam plasma. Konsumsi fruktosa dapat mempengaruhi mikrobiota usus sehingga dapat juga mempengaruhi komposisi SCFA.

Gangguan keseimbangan mikrobiota usus perlu diperbaiki dengan melakukan diet kaya serat yang telah dikaitkan dengan produksi SCFA dalam jumlah besar. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan Wu, Tang, *et al.*, (2019) menemukan senyawa baicalin yang dapat meningkatkan jumlah asam butirat, asam asetat, asam propionat, asam isobutirat, asam valerat dan asam isovalerat. Salah satu fungsi usus adalah sebagai penghalang usus yang mencegah

masuknya patogen, jika penghalang usus terganggu akan menyebabkan perkembangan inflamasi pada penyakit usus dan hipertensi.

Baicalin adalah komponen flavon dan glukuronida yang ditemukan di *Scutellaria baicalensis* (Wozniak *et al.,* 2015). *Scutellaria baicalensis* telah digunakan dalam pengobatan diare, hipertensi, disentri, pendarahan, insomnia, antiinflamasi dan infeksi saluran pernafasan (Zhao *et al.,* 2016). Pada kondisi hipertensi, pemberian baicalin mengurangi lesi nekrotik, ulseratif, memperbaiki hiperpermeabilitas usus, menurunkan ekspresi gen proinflamasi di ilium, usus besar dan meningkatkan kelimpahan SCFA (Wu, Tang, *et al.*, 2019). Penelitian Hidalgo *et al.*, (2018) juga menemukan bahwa diet minyak zaitun pada hewan uji telah terbukti meningkatkan kelimpahan bakteri penghasil SCFA yaitu *Lactobacilli* dan *Clostridia XIVa* dibandingkan kelompok S (diet standar). *Clostridia XIVa* merupakan salah satu dari kelompok bakteri anaerob yang memproduksi asam butirat. Kelimpahan *Clostridia XIVa* memberikan efek pada penurunan tekanan darah sistolik. *Lactobacilli* adalah bakteri penghasil asam laktat yang menghasilkan peptida aktif yang dapat menurunkan tekanan darah tinggi melalui mekanisme yang melibatkan jalur RAAS.

4. Kesimpulan

Peran SCFA dalam perkembangan hipertensi terjadi melalui mekanisme adanya difusi dan transpor zat terlarut dari SCFA yang kemudian mengaktivasi GPCR termasuk GPR43, GPR41 dan GPR109a sehingga memberikan efek vasodilatasi dengan menurunkan inflamasi, memperbaiki permeabilitas usus, menurunkan aktivitas saraf simpatis dan meningkatkan sel Treg. Mekanisme utama peran SCFA dalam perkembangan hipertensi di atas, dapat menjadi acuan untuk pencarian tanaman obat dalam menurunkan tekanan darah.

Daftar pustaka

Bartolomaeus, H., alogh, A., Yakoub, M., Homann, S., Markó, L., Höges, S. (2019). Short-Chain Fatty Acid Propionate Protects. *Circulation*, 1407–1421. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036652

Battson, M. L., Lee, D. M., Weir, T. L., & Gentile, C. L. (2018). The gut microbiota as a novel regulator of cardiovascular function and disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *56*, 1–15. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.12.010

Bier, A., Braun, T., Khasbab, R., Di Segni, A., Grossman, E., Haberman, Y., & Leibowitz, A. (2018). A high salt diet modulates the gut microbiota and short chain fatty acids production in a salt-sensitive hypertension rat model. *Nutrients*, *10*(9), 1–10. https://doi.org/10.3390/nu10091154

Calderón-pérez, L., Gosalbes, M. J., Yuste, S., Valls, R. M., Pedret, A., Llauradó, E., Jimenez-herna, N., Artacho,

A., Pla-pagà, L., Companys, J., Ludwig, I., Romero, M., Rubió, L., & Solà, R. (2020). Gut metagenomic and short chain fatty acids signature in hypertension : a cross-sectional study. *Scientific Reports*, 1–16. https://doi.org/10.1038/s41598-020-63475-w

Callejo, M., Mondejar-Parreño, G., Barreira, B., Izquierdo-Garcia, J. L., Morales-Cano, D., Esquivel-Ruiz, S., Moreno, L., Cogolludo, Á., Duarte, J., & Perez-Vizcaino, F. (2018). Pulmonary Arterial Hypertension Affects the Rat Gut Microbiome. *Scientific Reports*, *8*(1), 1–10. https://doi.org/10.1038/s41598-018-27682-w

Chen, J., He, X., & Huang, J. (2014). Diet Effects in Gut Microbiome and Obesity. *Journal of Food Science*, *79*(4). https://doi.org/10.1111/1750-3841.12397

Cresci, G. A., Thangaraju, M., Mellinger, J. D., Liu, K., & Ganapathy, V. (2010). Colonic gene expression in conventional and germ-free mice with a focus on the butyrate receptor GPR109A and the butyrate transporter SLC5A8. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, *14*(3), 449–461. https://doi.org/10.1007/s11605-009-1045-x

DiPiro, J. T., Yee, G. C., Posey, L. M., Haines, S. T., Nolin, T. D., & Ellingrod, V. (2020). *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Eleventh Edition* (Eleventh). McGraw-Hill Education Companies.

Ferrari, R. (2015). Writing narrative style literature reviews. *Medical Writing*, *24*(4), 230–235. https://doi.org/10.1179/2047480615z.000000000329

Hidalgo, M., Prieto, I., Abriouel, H., Villarejo, A. B., Ramírez-Sánchez, M., Cobo, A., Benomar, N., Gálvez, A., & Martínez-Cañamero, M. (2018). Changes in Gut Microbiota Linked to a Reduction in Systolic Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats Fed an Extra Virgin Olive Oil-Enriched Diet. *Plant Foods for Human Nutrition*, *73*(1), 6–11. https://doi.org/10.1007/s11130-017-0650-1

Hsu, C. N., Chang-Chien, G. P., Lin, S., Hou, C. Y., & Tain, Y. L. (2019). Targeting on Gut Microbial Metabolite Trimethylamine-N-Oxide and Short-Chain Fatty Acid to Prevent Maternal High-Fructose-Diet-Induced Developmental Programming of Hypertension in Adult Male Offspring. *Molecular Nutrition and Food Research*, *63*(18), 1–10. https://doi.org/10.1002/mnfr.201900073

Juanola, O., Ferrusquía-Acosta, J., García-Villalba, R., Zapater, P., Magaz, M., Marín, A., Olivas, P., Baiges, A., Bellot, P., Turon, F., Hernández-Gea, V., González-Navajas, J. M., Tomás-Barberán, F. A., García-Pagán, J. C., & Francés, R. (2019). Circulating levels of butyrate are inversely related to portal hypertension, endotoxemia, and systemic inflammation in patients with cirrhosis. *FASEB Journal*, *33*(10), 11595–11605. https://doi.org/10.1096/fj.201901327R

Kasubuchi, M., Hasegawa, S., Hiramatsu, T., Ichimura, A., & Kimura, I. (2015). Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and host metabolic regulation. *Nutrients*, *7*(4), 2839–2849. https://doi.org/10.3390/nu7042839

Kaye, D. M., Shihata, W. A., Jama, H. A., Tsyganov, K., Ziemann, M., Kiriazis, H., Horlock, D., Vijay, A., Giam, B., Vinh, A., Johnson, C., Fiedler, A., Donner, D., Snelson, M., Coughlan, M. T., Phillips, S., Du, X. J., El-Osta, A., Drummond, G., … Marques, F. Z. (2020). Deficiency of Prebiotic Fiber and Insufficient Signaling through Gut Metabolite-Sensing Receptors Leads to Cardiovascular Disease. *Circulation*, 1393–1403. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043081

Kemenkes RI. (2018). *Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS)*. Kemenkes RI.

Ma, J., & Li, H. (2018). The role of gut microbiota in atherosclerosis and hypertension. *Frontiers in Pharmacology*, *9*(SEP), 1–14. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01082

Marques, F. Z., Nelson, E., Chu, P. Y., Horlock, D., Fiedler, A., Ziemann, M., Tan, J. K., Kuruppu, S., Rajapakse, N. W., El-Osta, A., Mackay, C. R., & Kaye, D. M. (2017). High-fiber diet and acetate supplementation change the gut microbiota and prevent the development of hypertension and heart failure in hypertensive mice. *Circulation*, *135*(10), 964–977. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024545

Mell, B., Jala, V. R., Mathew, A. V., Byun, J., Waghulde, H., Zhang, Y., Haribabu, B., Vijay-Kumar, M., Pennathur, S., & Joe, B. (2015). Evidence for a link between gut microbiota and hypertension in the Dahl rat. *Physiological Genomics*, *47*(6), 187–197. https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00136.2014

Miyamoto, J., Ohue-Kitano, R., Mukouyama, H., Nishida, A., Watanabe, K., Igarashi, M., Irie, J., Tsujimoto, G., Satoh-Asahara, N., Itoh, H., & Kimura, I. (2019). Ketone body receptor GPR43 regulates lipid metabolism under ketogenic conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(47), 23813–23821. https://doi.org/10.1073/pnas.1912573116

Natarajan, N., Hori, D., Flavahan, S., Steppan, J., Flavahan, N. A., Berkowitz, D. E., & Pluznick, J. L. (2016). Microbial short chain fatty acid metabolites lower blood pressure via endothelial G protein-coupled receptor 41. *Physiological Genomics*, *48*(11), 826–834. https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00089.2016

Node, J. O. K. (2019). Gut microbiota and hypertension. *Hypertension Research*, *42*, 741–743. https://doi.org/10.1038/s41440-018-0203-5

Onyszkiewicz, M., Gawrys-Kopczynska, M., Konopelski, P., Aleksandrowicz, M., Sawicka, A., Koźniewska, E., Samborowska, E., & Ufnal, M. (2019). Butyric acid, a gut bacteria metabolite, lowers arterial blood pressure via colon-vagus nerve signaling and GPR41/43 receptors. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, *471*(11–12), 1441–1453. https://doi.org/10.1007/s00424-019-02322-y

Pluznick, J. L., Protzko, R. J., Gevorgyan, H., Peterlin, Z., Sipos, A., Han, J., Brunet, I., Wan, L. X., Rey, F., Wang, T., Firestein, S. J., Yanagisawa, M., Gordon, J. I., Eichmann, A., Peti-Peterdi, J., & Caplan, M. J. (2013). Olfactory receptor responding to gut microbiotaderived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(11), 4410–4415. https://doi.org/10.1073/pnas.1215927110

Richards, E. M., Pepine, C. J., Raizada, M. K., & Kim, S. (2017). The Gut, Its Microbiome, and Hypertension. *Current Hypertension Reports*, *19*(4), 1–11. https://doi.org/10.1007/s11906-017-0734-1

Roshifanni, S. (2016). Risiko Hipertensi Pada Orang Dengan Pola Tidur Buruk (Studi di Puskesmas Tanah Kalikedinding Surabaya). *Jurnal Berkala Epidemiologi*, *4*(3), 384–395. https://doi.org/10.20473/jbe.v4i3

Scholes, S., Conolly, A., & Mindell, J. S. (2020). Income-based inequalities in hypertension and in undiagnosed hypertension: Analysis of Health Survey for England data. *Journal of Hypertension*, *38*(5), 912–924. https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002350

Toral, M., Robles-Vera, I., De La Visitación, N., Romero, M., Yang, T., Sánchez, M., Gómez-Guzmán, M., Jiménez, R., Raizada, M. K., & Duarte, J. (2019). Critical role of the interaction gut microbiota-sympathetic nervous system in the regulation of blood pressure. *Frontiers in Physiology*, *10*(MAR), 1–14. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00231

Verhaar, B. J. H., Collard, D., Prodan, A., Levels, J. H. M., Zwinderman, A. H., Bäckhed, F., Vogt, L., Peters, M. J. L., Muller, M., Nieuwdorp, M., & van den Born, B. J. H. (2020). Associations between gut microbiota, faecal short-chain fatty acids, and blood pressure across ethnic groups: the HELIUS study. *European Heart Journal*, *41*(44), 4259–4267. https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa704

Weber, M. A., Schiffrin, E. L., White, W. B., Mann, S., Lindholm, L. H., Kenerson, J. G., Flack, J. M., Carter, B. L., Materson, B. J., Ram, C. V. S., Cohen, D. L., Cadet, J. C., Jean-Charles, R. R., Taler, S., Kountz, D., Townsend, R. R., Chalmers, J., Ramirez, A. J., Bakris, G. L., … Harrap, S. B. (2014). Clinical Practice Guidelines for the Management of Hypertension in the Community: A Statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension Clinical Practice Guidelines for the Management of Hypertension in the Comm. *Journal of Clinical Hypertension*, *16*(1), 14–26. https://doi.org/10.1111/jch.12237

WHO. (2015). *Hypertension 13* (Issue September 2019). https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension

Wozniak, D., Drys, A., & Matkowski, A. (2015). Antiradical and antioxidant activity of flavones from Scutellariae baicalensis radix. *Natural Product Research*, *29*(16), 1567–1570. https://doi.org/10.1080/14786419.2014.983920

Wu, D., Ding, L., Tang, X., Wang, W., Chen, Y., & Zhang, T. (2019). Baicalin protects against hypertension-

associated intestinal barrier impairment in part through enhanced microbial production of short-chain fatty acids. *Frontiers in Pharmacology*, *10*(OCT), 1–13. https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01271

Wu, D., Tang, X., Ding, L., Cui, J., Wang, P., Du, X., Yin, J., Wang, W., Chen, Y., & Zhang, T. (2019). Candesartan attenuates hypertension-associated pathophysiological alterations in the gut. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *116*(May), 109040. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109040

Yang, T., Santisteban, M. M., Rodriguez, V., Li, E., Ahmari, N., Carvajal, J. M., Zadeh, M., Gong, M., Qi, Y., Zubcevic, J., Sahay, B., Pepine, C. J., Raizada, M. K., & Mohamadzadeh, M. (2015). Gut Dysbiosis is Linked to Hypertension. *Hypertension*, *65*(6), 1331–1340. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05315

Zhao, Q., Chen, X. Y., & Martin, C. (2016). Scutellaria baicalensis, the golden herb from the garden of Chinese medicinal plants. *Science Bulletin*, *61*(18), 1391–1398. https://doi.org/10.1007/s11434-016-1136-5