



UNIVERSITAS
ISLAM
INDONESIA

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



Jurnal Ilmiah Farmasi

Scientific Journal of Pharmacy

Vol 19-1st edition
JANUARY - JULY 2023

Page 1 - 96

Now Available at :

 journal.uii.ac.id/jif

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

**JURNAL ILMIAH FARMASI
(Scientific Journal of Pharmacy)**

Head of the Journal

Head of Pharmacy Department
Universitas Islam Indonesia

Editor in Chief

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

Managing Editors

apt. Annisa Fitria, M.Sc.
apt. Chynthia Astiti Putri, M.Si
apt. Sista Werdyani, M.Biotech
apt. Yosi Febrianti, M.Sc.
apt. Siti Zahliyatul Munawiroh, Ph.D.
apt. Dian Medisa, MPH
Dr. apt. Rochmy Istikharah, M.Sc.
Dr. apt. Oktavia Indrati, M.Sc.

Editorial Boards

apt. Pinus Jumaryatno, M.Phil., Ph.D.
Prof. Dr. Is Fatimah
Prof. Patrick A. Ball
Dr. Hana Morrissey
Prof. Muhammad Taher
Assoc. Prof. Che Suraya Zin
Assoc. Prof. Deny Susanty
Dr. Mathew Bertin
Dr. Mohamed Haddad
Dr. Tommy Julianto
Prof. Dr. Abdul Rohman
Dr. Ronny Martien

Reviewers

Dr. apt. Bangunawati Rahajeng, M.Si.	apt. Okti Ratna Mafruhah, M.Sc., Ph.D.
Salmahaminati, M.Sc., Ph.D.	apt. Diesty Anita Nugraheni, M.Sc.
Dr. apt. Gunawan Pamudji Widodo	apt. Fithria Dyah Ayu Suryanegara, M.Sc.
apt. Saepudin, M.Si., Ph.D.	apt. Puguh Indrasetiawan, M.Sc., Ph.D.
apt. M. Hatta Prabowo, M.Si., Ph.D.	Dr. apt. Lamia Diang Mahalia, M.PH.
Dr. Dwiwarso Rubiyanto, S.Si., M.Si.	apt. Eka Noviana, M.Sc., Ph.D.
apt. Ari Wibowo, M.Sc.	apt. Anjar Windarsih, M.Pharm.,Sci.

Publisher

Department of Pharmacy
Faculty of Mathematics & Natural Sciences
Universitas Islam Indonesia

Address

Department of Pharmacy UII
Jl. Kaliurang km 14,5 Sleman Yogyakarta 55584
Phone. (+62274) 896439 ext. 3047
Email: jif@uii.ac.id
<https://journal.uui.ac.id/IIF>

TABLE OF CONTENTS

Editorial team	i
Table of contents	ii
Preface	iii
In Silico Study of <i>Monascus</i> sp. Pigment Derivatives as Anticardiovascular Candidate Dichy Nuryadin Zain, Anna Yuliana	1-14
Quality and antioxidant activity of faloak (<i>Sterculia quardifida</i> R.Br.) extract syrup with variations in addition to ginger (<i>Zingiber officinale</i> R.) Priska Ernestina Tenda, Lely A. V. Kapitan, Maria I. M. Indrawati, Faizal R. Soeharto	15-30
Drug utilization pattern and cost estimates of antihypertensive drugs in pharmacies BPJS Kesehatan back-referral program in Kudus Regency Wildayanti, Tri Wijayanti, Tri Murti Andayani	31-43
Anticancer activity of ethanol extract, n-hexane, and the ethyl acetate fraction of tin leaves (<i>Ficus carica</i> l.) on MCF-7 breast cancer cell lines Aji Winanta, Widhi Yana Sari	44-51
Isolation of antifungal bioactive compounds from an ethanolic extract of beluntas leaves (<i>Pluchea indica</i>) against <i>Microsporium canis</i> Devi Safitri, Muhaimin, Nelson, Indra Lasmana Tarigan, Lizawati, Madyawati Latief	52-64
The relationship between knowledge and community behavior in improving the immune system during the COVID-19 pandemic era in Barong Tongkok Village Stevania Windi, Lucia Vita Inandha Dewi, Inaratul Rizkhy Hanifah	65-75
Determinant analysis of Length of Stay (LoS) in Covid-19 isolation room at RSUD Jend. A. Yani Metro City Devina Harti Syaputri, Dian Ratih Laksmiawati, Prih Sarnianto, Andreas Infianto	76-86
Validation and development of UV-Vis spectrophotometer analysis methods for alpha-tocopherol acetate Arif Al Iman, Winni Nur Auli, Sukrasno	87-96

PREFACE

Alhamdulillah, all praise is due to Allah Ta'ala, who has bestowed the opportunity and strength so that the **Scientific Journal of Pharmacy (JIF) Vol. 19 No. 1 of 2023** can be published. This issue contains eight articles, five on the Pharmaceutical Science topic and three from the Clinical Pharmacy scope. The article presented in the Clinical Pharmacy scope reviews the effectiveness of therapy for patients in hospitals and the evaluation of pharmacist services in health facilities. Meanwhile, papers in the Pharmaceutical Science area include testing drugs from natural ingredients and their approach through in silico methods.

We hope that all the articles presented in this issue provide benefits and add insight to readers regarding the development of research in pharmacy and health. We eagerly await suggestions and constructive criticism from readers. We also invite readers to participate in submitting articles to be published in this journal. For interested readers, they can pay attention to the submission guidelines and immediately send the manuscript to our online journal system (OJS).

Finally, we wish you happy reading and apologize for any errors and omissions in the publication of this issue.

Yogyakarta, July 2023
Editor in Chief



In Silico Study of *Monascus* sp. Pigment Derivatives as Anticardiovascular Candidate

Dichy Nuryadin Zain, Anna Yuliana*

Prodi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada

*Corresponding author: annayuliana@universitas-bth.ac.id

Abstract

Background: Cardiovascular disease is the leading cause of death in the world. The therapeutic activity of *Monascus* sp. pigment can act as an anticardiovascular agent. Research on *Monascus* sp. pigment is rapidly developing, including the discovery of new pigments, the methods used, and their identification. Currently, there are 57 dyestuff compounds that have been successfully isolated from *Monascus* molds. So, researchers conducted an in-silico study of *Monascus* sp.

Objective: To determine whether it can have better interactions and activities as an anticardiovascular medicine candidate.

Method: PAK1 is used as a receptor for anticardiovascular drugs. 57 test compounds were carried out for ligand preparation and application of Lipinski's rule of five by using MarvinSketch software, ADME prediction and toxicity testing using PreADMET, the docking process using Autodock tools, and visualization using Discovery Studio.

Results: The results of the docking analysis are seen from the values of binding affinity consecutively. compound R3 (-8.74 kcal/mol), red shandong (-8.16 kcal/mol), and monaphilol (-8.14 kcal/mol) are lower than the comparison compound bisoprolol (-6.44 kcal/mol), which shows that the three compounds have better interactions than the comparison compounds.

Conclusion: Derivative compounds from *Monascus* sp. Pigment are predicted to have better interactions and can be used as anticardiovascular medicine candidates.

Keywords: *Monascus* sp., pigment, anticardiovascular, in silico, PAK1, ADME, and toxicity

1. Introduction

The cardiovascular system is a very important system in the body because cells and tissues can work properly with the supply of oxygen and blood. Cardiovascular disease is a disease that affects the heart and blood vessels. Some people experience this disease. Common diseases include coronary heart disease, stroke, heart failure, and hypertension (Aisyah, 2014).

Coronary Heart Disease (CHD) is a major health problem that often occurs in developed and developing countries. There are various factors that can cause this disease, so multifactorial prevention is needed. Prevention is pursued wherever possible by controlling risk factors because they play an important role in primary and secondary prevention (Farahdika & Azam, 2015). Heart disease is one of the main causes of problems in the world and the number one cause of death. In 2015, there were more than 17 million people in the world who died from heart and blood vessel disease, or about 31% of all deaths in the world, around 8.7 million were due to coronary heart disease. More than 75% of heart and vascular disease occurs in low- to moderate-income developing countries (WHO, 2015).

The therapeutic activity of the red pigment depends on the presence of several bioactive metabolites such as monascopyridines, xanthomonadin, monascumic acid, ascorbic acid, polyphenols, and monacolin, which act as anticardiovascular agents. *Monascus* sp. is a type of mold

that is used for rice fermentation to produce red rice (Red Mold Rice) or Angkak. For a long time, Angkak has been used as food in Asia and is used in traditional medicine with various bioactive compounds, including monacolin, which has the potential to be used as a nutraceutical (Mostafa & Abbady, 2014; Nguyen *et al.*, 2017).

Research on the pigments of *Monascus* sp. has developed rapidly, including the discovery of new pigments, methods, and methods of identification. Until now, there have been 57 dyestuff compounds that have been isolated from *Monascus* molds (Yuliana *et al.*, 2017). However, the study of its activities and safety is relatively limited. The *in-silico* toxicology method can provide a preliminary overview and identify the toxicity of a compound or a selection of potential drug compounds that will be developed into new drug candidates. The *in silico* test is a complement to *in vitro* and *in vivo* tests that can streamline the use animals, reduce cost and save time (Purnomo, 2013).

The laboratory test of one of the pigments of *Monascus* sp. has proven to have anticardiovascular activity and has successfully isolated the color pigment from *Monascus* sp., so further research is needed regarding other pigments from *Monascus* sp., which can be a solution to finding new drug candidate compounds that have anti-cardiovascular effects. So, the study with the title "In Silico Study of pigment derivative compounds from *Monascus* sp. as an Anticardiovascular candidate" is carried out to predict the active compound of the *Monascus* sp. Pigment and its derivatives as an anticardiovascular agent and the interaction that accompanies the molecule complex with the receptor on the target cell (Yuliana *et al.*, 2017).

2. Methodology

2.1. Tool

The tools that are used in this research are computer hardware and software. These tools include a personal computer with Intel(R) Celeron(R) N4000 specification between 1.10 GHz (CPUs), 1.1GHZ and 4.96 GB of RAM, and the software used in this research is MarvinSketch, Autodoc, Molegro Molecular Viewer, and web-based programs such as, PdbSum and PreADMET.

2.2. Material

The materials used were the PAK1 receptor in the form of PDB files, which were the results of the identification of receptors for anti-cardiovascular products that were downloaded from <http://www.rcsb.org>, and 57 dyestuff compounds isolated from azhapilone derivatives from the mold *Monascus* sp. which is listed in Table 1.

2.3. Method

2.3.1 Ligand preparation

Ligands were drawn using MarvinSketch software version 5.2.5.1, which further optimized the geometry and protonation at pH 7.4. The next process is geometry optimization to get a stable structure with the minimum potential energy, and then the results are saved in pdb format for docking process using mol2 format (Prasetia, 2011).

2.3.2 Drug Scan

Drug observations Conducted on dyestuffs that are derived from azhapilone from *Monascus* sp. The analysis was carried out considering Lipinski's rule of five and the oral bioavailability of the ligand. The parameters used were <500 g mol molecular weight, <5 lipophilicity, <5 hydrogen bond donors, <10 hydrogen bond acceptors, and a refractory molarity between 40-130 (Lipinski *et al.*, 1997; Lipinski *et al.*, 2001).

2.3.3 ADME study

The preADMET program is accessed at <http://preadmet.bmdrc.org/>. The structure of each compound is converted to molfile (*.mol). The preADMET program will automatically calculate the predicted absorption for Caco-2 cells, HIA (Human Intestinal Absorption), and bound plasma proteins (Nursamsiar *et al.*, 2016).

2.3.4 Toxicity test

The toxicity test was carried out on the *Monascus* sp. pigment compound. This process uses the preADMET program at <http://preadmet.bmdrc.org/> and can be classified based on their toxicity (Raies & Bajic, 2016; Ruswanto, 2015).

2.3.5 Receptor analysis

Anticardiovascular receptors were analyzed using a web-based program called PDBsum (www.ebi.ac.uk/pdbsum/). Enter the 5IME code as the PDB receptor code, and then the profile data of the receptor will appear. Then download it from the Protein Data Bank at www.rcsb.org (Raies & Bajic, 2016; Ruswanto, 2015).

2.3.6 Docking validation

Docking method validation is done using Autodoc software. This validation is carried out on valid ligands and docking results. The parameter used is the Root Mean Square Deviation (RMSD) parameter. The docking method is said to be valid if it has an RMSD value <2. This validation process will compare the position of the original ligand on the tested receptor against the same ligand position (copy ligand) when the copy ligand is docked. At this stage, it is carried out in the

absence of water to determine the effect of the presence of water on the docking process. The presence of water will block the bond between the ligand and the receptor because water can form hydrogen bonds with the receptor (Raies & Bajic, 2016; Ruswanto, 2015).

2.3.7 Docking of sample ligands and visualization of interactions with target proteins

Docking is done with Autodock software, and then the same grid box is set in the validation process. The docking results were selected for ligands and proteins with the lowest binding affinity value and then stored in the pdb format (Meiyanto, 2012).

3. Result and discussion

3.1. Drug scan

Based on the data from the drug scan results in Table I, it shows that there are 12 compounds that do not meet Lipinski's rule of five: Isolate MPs 1, Isolate MPs 2, Monaspyridine B, N-glucosyl rubropuctamine, N-glucosyl monascorubramine, N-glutaryl rubropuctamine, N-glutaryl monascuorubramine, Red derivate 3, Red derivate 4, Red derivate 7, Red derivate 8, Y3. Meanwhile, 45 other compounds meet the requirement of Lipinski's rule of five; those are FK 17-P2B2, Monankarin AB, Monankarin CB, Monankarin E, Monankarin F, Monaphilones A, Monaphilones B, Monaphilones C, Monapurones A, Monapurones B, Monapurones C, Monarubrin (Y, Bf), Monascusone A, Monascusone B, Monascuspiloin, Monashexenon, Purpureus One, Robropuctin, Xantomonascin A, Xantomonascin B, Yellow II, Monaphilol A, Monaphilol B, Monaphilol C, Monaphilol D, Monasfluor A, Monasfluor B, Coumpound R3, Glycil-rubamin 3, Isolate MPs 4, Monaspyridine A, Monaspyridine C, Monaspyridine D, New red pigment, Red derivate 1, Red derivate 2, Red derivate 5, Red derivate 6, Red Shandong 1, Red Shandong 2, Unnamed, PPV, Monascuskaodione A, Monascuskaodione B. Compounds that meet the Lipinski rules are presumed to have good bioavailability. However, not all compounds have good activity according to Lipinski's rules (Santoso *et al.*, 2016).

3.2. ADMET study

This is a quantitative test using the preADMET program. In general, the ADME process aims to determine when the drug enters the body and the drug is absorbed (absorption), then spread to all body tissues through the blood (distribution), then metabolized in certain organs, especially the heart (metabolism), and then the metabolic results are released from the body (excretion). Based on the results of the ADME test using the web-based PreADMET program in Table 2, the pigment derivative compounds of *Monascus* sp. had a moderate permeability value, which is in the range of

4-70%; only FK 17-P2B2 (0.993%) compounds have low permeability. The absorption process in the human intestine is in the range of 70-100% which is a good range (Nursamsiar *et al.*, 2016). The protein binding in the blood of the Isolate MPs3 compound, Isolate MPs4, N-glutaryl monascorubramine, Monaspyridine A, Monaspyridine B, Monaspyridine D, Red derivate 1, Red derivate 5, Monascuskaodione B, Monaphilones A, Monaphilones B, Monarubrin (Y, Bf), Purpures one, Robropuctin, Yellow II, Xantomonascin A, Xantomunascin B, Monaphilol A, Monaphilol B, Monasfluor A, Monasfluor B have high values of > 90%, indicating strong bonds with plasma proteins in the body.

Based on the data in Table 2, the toxicity test used the Ames test parameter to determine that most of the compounds are non-mutagenic, which means that they do not cause changes in genetics (DNA or RNA) either at the level of the gene or chromosome sequences that can cause cancer or are also known as carcinogens.

Table 1. Drug scan test results in accordance with Lipinski's the rule of five

No	Compound Name	Parameter				
		Molecular Weight (<500)	Lipofility (<5)	Hydrogen Bond Donor (<5)	Hydrogen Bond Acceptor (<10)	Refractory Molars (40-130)
Red Pigment						
1	<i>Compound R3</i>	374.4275	2.05	1	8	101.41
2	<i>Glycyl-rubropuntamin</i>	413.4636	3.33	1	10	114.09
3	<i>Isolate MPs 1</i>	510.5821	2.85	5	13	152.26
4	<i>Isolate MPs 2</i>	538.6352	3.74	5	13	161.46
5	<i>Isolate MPs 3</i>	439.5009	4.08	1	10	123.54
6	<i>Isolate MPs 4</i>	439.5439	4.32	1	8	126.87
7	<i>Monaspyridine A</i>	355.4275	4.23	0	7	98.81
8	<i>Monaspyridine B</i>	383.4807	5.12	0	7	108.01
9	<i>Monaspyridine C</i>	357.4434	3.90	1	7	98.88
10	<i>Monaspyridine D</i>	343.4599	4.61	1	6	100.56
11	<i>N-glucosyl rubroputamine</i>	557.6320	2.65	4	12	149.92
12	<i>N-glucosyl monascurobamine</i>	585.6851	3.54	4	12	159.12
13	<i>N-glutaryl monascorubramine</i>	511.5635	4.30	2	13	138.82
14	<i>N-glutaryl rubropuctamine</i>	483.5104	3.41	2	13	129.62
15	<i>New red pigment</i>	375.4587	1.16	3	7	103.91
16	<i>Red derivate 1</i>	453.5274	4.65	1	10	128.03
17	<i>Red derivate 2</i>	425.4743	3.76	1	10	118.83
18	<i>Red derivate 3</i>	497.5369	4.01	2	13	134.07
19	<i>Red derivate 4</i>	469.4838	3.12	2	13	124.87
20	<i>Red derivate 5</i>	453.3274	4.65	1	10	128.03
21	<i>Red derivate 6</i>	425.4743	3.76	1	10	118.83
22	<i>Red derivate 7</i>	497.5369	4.01	2	13	134.07
23	<i>Red derivate 8</i>	469.4838	3.12	2	13	124.87

No	Compound Name	Parameter				
		Molecular Weight (<500)	Lipofility (<5)	Hydrogen Bond Donor (<5)	Hydrogen Bond Acceptor (<10)	Refractory Molars (40-130)
24	<i>Red Shandong 1</i>	303.3960	0.54	4	4	91.77
25	<i>Red Shandong 2</i>	331.4492	1.43	4	4	100.96
26	<i>Unnamed</i>	375.4587	1.16	3	7	103.91
Red Purple						
27	<i>PP-V</i>	412.4556	3.26	3	9	125.22
Colorless oil						
28	<i>Monascuskaodione A</i>	356.4123	3.38	0	7	100.67
29	<i>Monascuskaodione B</i>	384.3654	4.27	0	7	109.87
Yellow Pigment						
30	<i>FK 17-P2B2</i>	236.2637	0.35	2	5	66.34
31	<i>Monankarin A-B</i>	358.3851	2.36	2	7	98.10
32	<i>Monankarin C-D</i>	372.4117	2.90	2	7	103.14
33	<i>Monankarin E</i>	344.3585	2.02	2	7	93.63
34	<i>Monankarin F</i>	356.4123	2.99	2	6	103.21
35	<i>Monaphilones A</i>	360.4871	4.16	1	6	106.90
36	<i>Monaphilones B</i>	322.4339	3.27	1	6	97.70
37	<i>Monaphilones C</i>	336.4657	4.14	1	7	95.95
38	<i>Monapurones A</i>	330.4180	2.98	1	6	97.87
39	<i>Monapurones B</i>	344.4446	3.93	0	5	101.83
40	<i>Monapurones C</i>	344.4446	3.93	0	5	101.83
41	<i>Monarubrin (Y.Bf)</i>	330.4180	3.13	1	6	97.95
42	<i>Monascusone A</i>	254.2790	0.99	3	6	67.08
43	<i>Monascusone B</i>	302.3218	1.64	0	7	82.07
44	<i>Monascuspiloin</i>	360.4440	3.11	1	6	101.32
45	<i>Monashexenoone</i>	320.4232	3.70	1	7	92.33
46	<i>Purpureus one</i>	390.5131	5.43	0	8	107.95
47	<i>Robropuctin</i>	358.4712	4.02	1	6	107.15
48	<i>Xantomonascin A</i>	388.4111	4.00	2	8	102.20
49	<i>Xantomonascin B</i>	414.4914	3.75	2	8	126.81
50	<i>Y3</i>	448.571	0.34	6	8	115.88
51	<i>Yellow II</i>	372.4547	4.31	1	7	116.32
Orange Pigment						
52	<i>Monaphilol A</i>	384.4654	3.62	1	6	111.10
53	<i>Monaphilol B</i>	356.4123	2.73	1	6	101.89
54	<i>Monaphilol C</i>	440.5287	3.59	1	8	125.32
55	<i>Monaphilol D</i>	412.4755	2.70	1	8	116.12
Blue Fluorescence Pigment						
56	<i>Monasfluor A</i>	354.4394	3.98	0	5	104.30
57	<i>Monasfluor B</i>	384.4654	4.27	0	7	109.87

Note: Text in bold does not meet the requirements.

Table 2. Prediction of toxicity and ADME result

No	Compound Name	Parameter			
		CaCo ₂	HIA	Plasma Protein Binding	Ames test
Red Pigment					
1	<i>Coumpound R3</i>	17.4163 (Medium)	95.677133 (Good)	73.231309 (Weakly Bonded)	Non mutagen

No	Compound Name	Parameter			Ames test
		CaCo ₂	HIA	Plasma Protein Binding	
2	<i>Glycyl-rubropuntamin</i>	20.9325 (Medium)	96.702970 (Good)	87.663371 (Weakly Bonded)	Non mutagen
3	<i>Isolate MPs 1</i>	9.25845 (Medium)	74.407933 (Good)	64.976138 (Weakly Bonded)	Mutagen
4	<i>Isolate MPs 2</i>	8.92909 (Medium)	78.193552 (Good)	78.061242 (Weakly Bonded)	Mutagen
5	<i>Isolate MPs 3</i>	21.5677 (Medium)	98.309963 (Good)	90.416630 (Strongly Bonded)	Non mutagen
6	<i>Isolate MPs 4</i>	25.6923 (Medium)	99.303546 (Good)	92.314035 (Strongly Bonded)	Non mutagen
7	<i>N-glucosyl rubroputamine</i>	12.4451 (Medium)	85.412276 (Good)	65.185992 (Weakly Bonded)	Non mutagen
8	<i>N-glucosyl monascurobamine</i>	12.5306 (Medium)	87.690078 (Good)	79.078783 (Weakly Bonded)	Non mutagen
9	<i>N-glutaryl monascorubramine</i>	19.8389 (Medium)	92.538271 (Good)	90.486415 (Strongly Bonded)	Non mutagen
10	<i>N-glutaryl rubropuctamine</i>	19.7598 (Medium)	90.311224 (Good)	88.136.616 (Weakly Bonded)	Non mutagen
11	<i>New red pigment</i>	17.9896 (Medium)	89.666473 (Good)	66.572743 (Weakly Bonded)	Non mutagen
12	<i>Monaspyridine A</i>	26.367 (Medium)	98.750840 (Good)	91.953695 (Strongly Bonded)	Non mutagen
13	<i>Monaspyridine B</i>	32.7272 (Medium)	98.912525 (Good)	93.500167 (Strongly Bonded)	Non mutagen
14	<i>Monaspyridine C</i>	22.7729 (Medium)	96.648798 (Good)	89.685299 (Weakly Bonded)	Non mutagen
15	<i>Monaspyridine D</i>	22.9611 (Medium)	96.270412 (Good)	97.268350 (Strongly Bonded)	Non mutagen
16	<i>Red derivate 1</i>	22.1952 (Medium)	98.668455 (Good)	90.932647 (Strongly Bonded)	Non mutagen
17	<i>Red derivate 2</i>	21.2765 (Medium)	97.891289 (Good)	88.641765 (Weakly Bonded)	Non mutagen
18	<i>Red derivate 3</i>	20.5128 (Medium)	91.491229 (Good)	89.736964 (Weakly Bonded)	Non mutagen
19	<i>Red derivate 4</i>	20.4423 (Medium)	88.981951 (Good)	86.838945 (Weakly Bonded)	Non mutagen
20	<i>Red derivate 5</i>	22.1952 (Medium)	98.668455 (Good)	90.932647 (Strongly Bonded)	Non mutagen
21	<i>Red derivate 6</i>	21.2765 (Medium)	97.891289 (Good)	88.641765 (Weakly Bonded)	Non mutagen
22	<i>Red derivate 7</i>	20.5128 (Medium)	91.491229 (Good)	89.736964 (Weakly Bonded)	Mutagen
23	<i>Red derivate 8</i>	20.4423 (Medium)	88.981951 (Good)	86.838945 (Weakly Bonded)	Mutagen
24	<i>Red Shandong 1</i>	13.6843 (Medium)	85.719545 (Good)	71.398196 (Weakly Bonded)	Mutagen
25	<i>Red Shandong 2</i>	14.2523 (Medium)	87.122330 (Good)	87.278357 (Weakly Bonded)	Non mutagen
26	<i>Unnamed</i>	17.9896 (Medium)	89.666473 (Good)	66.572743 (Weakly Bonded)	Non mutagen

No	Compound Name	Parameter			Ames test
		CaCo ₂	HIA	Plasma Protein Binding	
Red Purple					
27	<i>PP-V</i>	4.01366 (Medium)	92.923736 (Good)	86.114618 (Weakly Bonded)	Mutagen
Colorless oil					
28	<i>Monascuskaodione A</i>	28.3725 (Medium)	98.770329 (Good)	88.897997 (Weakly Bonded)	Mutagen
29	<i>Monascuskaodione B</i>	36.0846 (Medium)	98.771155 (Good)	92.381422 (Strongly Bonded)	Mutagen
Yellow Pigment					
30	<i>FK 17-P2B2</i>	0.993 (Low)	90.432010 (Good)	56.076521 (Weakly Bonded)	Mutagen
31	<i>Monankarin A-B</i>	21.4435 (Medium)	93.567317 (Good)	85.583078 (Weakly Bonded)	Non mutagen
32	<i>Monankarin C-D</i>	21.9971 (Medium)	93.909198 (Good)	87.093425 (Weakly Bonded)	Non mutagen
33	<i>Monankarin E</i>	20.8618 (Medium)	93.127449 (Good)	81.200843 (Weakly Bonded)	Non mutagen
34	<i>Monankarin F</i>	35.5122 (Medium)	93.789307 (Good)	88.543275 (Weakly Bonded)	Non mutagen
35	<i>Monaphilones A</i>	46.4843 (Medium)	96.065559 (Good)	93.232878 (Strongly Bonded)	Non mutagen
36	<i>Monaphilones B</i>	40.8229 (Medium)	96.054536 (Good)	90.112573 (Strongly Bonded)	Non mutagen
37	<i>Monaphilones C</i>	26.9554 (Medium)	95.760530 (Good)	86.135746 (Weakly Bonded)	Non mutagen
38	<i>Monapurones A</i>	26.4733 (Medium)	96.071604 (Good)	85.103277 (Weakly Bonded)	Non mutagen
39	<i>Monapurones B</i>	44.272 (Medium)	97.697949 (Good)	88.300451 (Weakly Bonded)	Mutagen
40	<i>Monapurones C</i>	44.272 (Medium)	97.697949 (Good)	88.300451 (Weakly Bonded)	Mutagen
41	<i>Monarubrin (Y.Bf)</i>	40.5147 (Medium)	96.071613 (Good)	92.263384 (Strongly Bonded)	Non mutagen
42	<i>Monascusone A</i>	19.3778 (Medium)	78.683369 (Good)	34.939799 (Weakly Bonded)	Non mutagen
43	<i>Monascusone B</i>	22.9891 (Medium)	97.536574 (Good)	61.438550 (Weakly Bonded)	Mutagen
44	<i>Monascuspiloin</i>	30.4892 (Medium)	96.468903 (Good)	90.306522 (Strongly Bonded)	Non mutagen
45	<i>Monashexenoone</i>	22.609 (Medium)	95.857284 (Good)	88.158433 (Weakly Bonded)	Non mutagen
46	<i>Purpureus one</i>	31.1835 (Medium)	98.247814 (Good)	90.721848 (Strongly Bonded)	Non mutagen
47	<i>Robropuctin</i>	46.2928 (Medium)	96.050080 (Good)	95.896405 (Strongly Bonded)	Non mutagen
48	<i>Y3</i>	19.3732 (Medium)	50.125685 (Good)	67.649190 (Weakly Bonded)	Mutagen
49	<i>Yellow II</i>	34.2219 (Medium)	96.423561 (Good)	91.738989 (Strongly Bonded)	Mutagen
50	<i>Xantomonascin A</i>	19.6124	88.865206	96.842726	Mutagen

No	Compound Name	Parameter			Ames test
		CaCo ₂	HIA	Plasma Protein Binding	
		(Medium)	(Good)	(Strongly Bonded)	
51	<i>Xantomonascin B</i>	26.5245	94.538788	94.764093	Mutagen
		(Medium)	(Good)	(Strongly Bonded)	
Orange Pigment					
52	<i>Monaphilol A</i>	36.7103	96.501044	95.427557	Mutagen
		(Medium)	(Good)	(Strongly Bonded)	
53	<i>Monaphilol B</i>	29.408	96.568439	91.926288	Mutagen
		(Medium)	(Good)	(Strongly Bonded)	
54	<i>Monaphilol C</i>	34.038	97.366571	89.549401	Non mutagen
		(Medium)	(Good)	(Weakly Bonded)	
55	<i>Monaphilol D</i>	27.7997	97.311031	83.639250	Non mutagen
		(Medium)	(Good)	(Weakly Bonded)	
Blue Fluorescence Pigment					
56	<i>Monasfluor A</i>	49.808	97.649968	92.794086	Mutagen
		(Medium)	(Good)	(Strongly Bonded)	
57	<i>Monasfluor B</i>	36.0846	98.771155	92.381422	Mutagen
		(Medium)	(Good)	(Strongly Bonded)	

Note: Text in bold does not meet the requirements.

Table 3. Analysis of anticardiovascular receptors

No	Receptor Name	Receptor Code	Grid box			RMSD
			X	Y	Z	
1	Phospholipase	1TGM	11.516	14.32	3.35	2.28
2	Phospholipase A2	10XR	46.406	32.446	7.672	5.59
3	Myotoxin II	6MQF	11.404	-71.575	55.805	4.80
4	Lactoperoxidase	2QQT	3.367	4.056	29.937	6.29
5	PAK1	5IME	18.472	-16.384	11.213	0.75

Note: Text in bold is the best receptor.

3.3. Analysis of anticardiovascular receptors

Receptor preparation in this study was done by downloading anti-cardiovascular receptors from the Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). There are 5 anticardiovascular receptors with the codes 1TGM, 10XR, 6MQF, 2QQT, and 5IME. Due to its best RMSD value, only 5IME was taken out of the five other compounds. The PAK1 receptor with code 5IME is then downloaded in .pdb format (Table 3).

The Ramachandran Plot analysis shows that the 5IME receptor has a stable structure because 91.2% of the residues are in the most preferred area and only 0.4% are in the least preferred area. It can be said that the structural quality of the protein is good if the residue in the disallowed region (the unwanted area) is smaller than 15% and the amino acid residue in the most favored region is greater than 50% (Amelia, 2013).

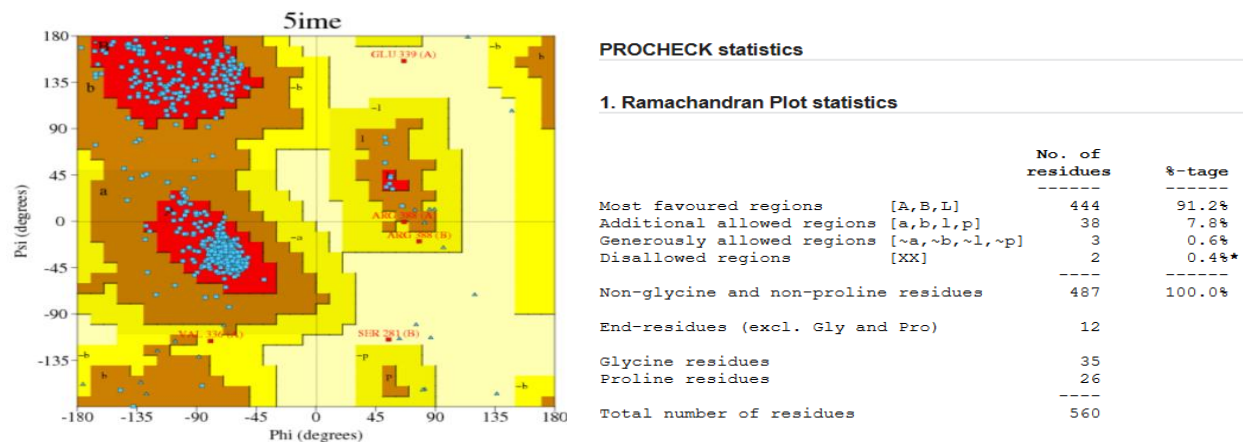


Figure 1. 5IME Ramachandran plot

3.4. Docking validation

Based on the validation results (Table 4), the RMSD value for the 5IME code PAK1 GDP receptor is 0.75, and the result is ≤ 2 . Grid box X = 18.472, Y = -16.384, and Z = 11.213. So, from the results of the validation above, the PAK1 receptor with the 5IME code met the validation criteria for the docking method so that it could be used on the sample ligand. The validation process can compare the position of the original ligand (brown) to the PAK1 receptors with the 5IME code tested against the same ligand position (copy ligand) when the copy ligand is docked. At this stage, it is carried out without water to determine the effect of the presence of water at the docking process stage (Figure 2). The presence of water can block the bonds between ligands and receptors because water can form hydrogen bonds with receptors (Pebriana *et al.*, 2012).

Table 4. Docking validation results

PDB Code	Grid Box			RMSD
	X	Y	Z	
5IME	18.472	-16.384	11.213	0.75

Docking is done using Autodock. The receptors of the validation results are entered into the software, and then natural ligands are used for the validation process. The grid box is then arranged. The use of the grid box in the docking process is the same as the grid box used for natural ligands. So that the test ligand can interact with the area inside the receptor. The grid box center used is (X= 18.472, Y= -16.384 and Z= 11.213). The results are the binding affinity value (Raies & Bajic, 2016; Ruswanto, 2015).

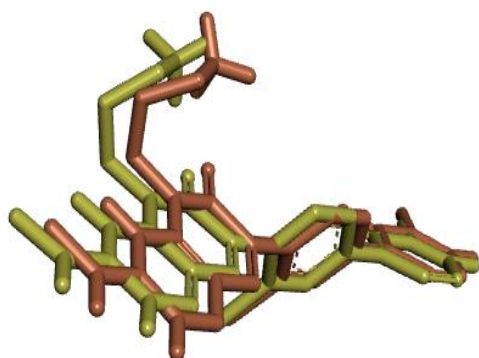


Figure 2. Visualization of the docking validation results (original ligand: brown, copy ligand: green)

3.5. Docking of sample ligands and visualization of interactions with target proteins

3.5. Analysis of docking results

The docking result between the ligand and the target protein will produce various conformations of the tested compound. The binding energy must be considered in the docking results. The best conformation can be seen through the binding energy (ΔG) which has units of kcal/mol. The binding energy describes the strength of the bond that occurs between the ligand and the target protein. The bond energy has a relationship with the inhibition constant. The smaller the inhibition constant, the smaller the bond energy. So, it is known that the smaller the bond energy, the more preferred the interaction between ligands and enzymes (Meiyanto, 2012). The results of each conformation between the ligands and the target protein can be seen in Table 5.

The data in Table 5 shows that all the sample ligands have the ability to bind to the target protein. According to the results of the analysis above, the average of the sample ligand has a smaller binding affinity than the comparison compound (Bisoprolol). This shows that the sample compound modified with the derivative compound from *Monascus sp.* can inhibit the target protein well and is more stable than the comparison compound. Bisoprolol is a drug belonging to the group of β -blockers, a class of medicines used primarily in cardiovascular diseases (Sabidó *et al.*, 2019).

Table 5. Interaction of ligands with tested target proteins

No	Compounds Name	Binding affinity	Hydrogen Bond	Amino Acid
1	Comparison compound (Bisoprolol)	-6.44	LEU347 MET319	LEU347, MET319, SER351, GLY350, ALA348, LYS538, THR406, TYR330, ILE316, VAL342, PHE408, LYS299, ASP507, ALA297, GLU345, VAL328, LEV396, MET344, TYR346
2	<i>Compound R3</i>	-8.74	LEU347 THR406 ASP407	LEU347, THR406, ASP407, LYS299, VAL343, ILE298, VAL284, ALA297, TYR346, LEU396, MET344, GLU315, TYR330, MET319, ILE316
3	<i>Red Shandong 2</i>	-8.16	LEU347	LEU347, THR406, GLY350, ALA297, VAL284,

			THR406	LYS299, MET319, TYR330, ILE316, VAL342, ILE298, GLU314, MET344, ASP407, GLU345, VAL328, LEU396, TYR346
4	<i>Monaphilol C</i>	-8.14	LEU347 LYS199	LEU347, LYS299, TYR346, LEU396, GLU345, VAL328, ALA297, THR406, MET344, ASP402, ILE316, GLU315, VAL342, MET319, VAL284, GLY350
5	<i>Monankarin A-B</i>	-7.81	ASP407 LYS299 LEU347	ASP407, LYS299, LEU347, MET344, VAL342, ILE298, GLU345, VAL328, ALA297, TYR346, LEU396, GLY350, SER351, ASP393, ASN394
6	<i>Monankarin F</i>	-7.79	GLU315 VAL342	GLU315, VAL342, ASP393, THR406, ASP407, PHE408, MET319, MET344, LYS299, ILE298, VAL284, ALA297, LEU396, ASN394
7	<i>Unnamed</i>	-7.77	LEU347	LEU347, VAL342, THR406, ALA297, LEU396, VAL328, GLU345, MET344, TYR346, VAL284, ILE298, ASP407, LYS299, GLY350, ILE276
8	<i>Monaphilol D</i>	-7.76	LYS298 GLU315	LYS298, GLU315, ASP393, MET344, ASP407, PHE408, ILE316, TYR330, MET319, VAL342, MET301, GLU349, VAL284, ALA297, VAL328, LEU396, THR406
9	<i>Monaspyridine C</i>	-7.66	LEU347 GLU345	LEU347, GLU345, GLY279, GLN278, ILE276, LEU396, TYR346, VAL328, ALA297, MET344, GLU315, VAL342, LYS299, ILE298, VAL284, GLN278, GLY279
10	<i>Monankarin C-D</i>	-7.63	-	GLU315, ALA297, ILE276, LEU347, TYR346, VAL328, GLU345, GLY350, SER351, LEU396, VAL284, LYS299, ASP407, ILE298, VAL342, MET344
11	<i>Monashexoone</i>	-7.60	LEU347 LYS299 ASP407 THR406	LEU347, LYS299, ASP407, THR406, GLY350, GLU345, LEU396, VAL328, GLU315, MET301, VAL342, PHE408, MET319, ILE276, TYR346, VAL284, ALA297

Note: Text in bold is the best binding affinity score

4. Conclusion

From all the stages and the results that have been obtained from this research, the following conclusions can be drawn:

1. Based on the results of Drugscan testing of 57 *Monascus* sp. pigment compounds, 12 compounds do not meet Lipisnki's rule of five. Meanwhile, 45 other compounds met the requirements.
2. Based on the toxicity test results and the results of the ADME study of 57 *Monascus* sp. pigment compounds, 34 compounds did not meet the parameters, while 23 other compounds did.
3. Based on the results of the docking analysis of the 10 best compounds from Drugscan, the ADME and Toxicity studies seen from the binding affinity value, respectively, show that there were 3 best compounds, compound R3, red Shandong 2, and Monaphilol C, which were -8.74, -

8.16, and -8.14 kcal/mol lower than the comparison compound (-6.44 kcal/mol), which means that the three compounds have better interactions than the comparison compound.

4. Pigment derivative compounds from *Monascus* sp. are predicted to have better interactions and can be used as anticardiovascular drug candidates: compound R3, red Shandong 2, and monaphilol C.

References

- Aisyah, I. (2014). *Hubungan Penggunaan Obat Kardiovaskular terhadap Terjadinya Xerostomia pada Pasien Penyakit Jantung Koroner di RSUD Dr. Pirngadi Medan Universitas Sumatera Utara*. Medan.
- Amelia, F. (2013). Modeling struktur protein vaksin H5N1 HA BTB menggunakan I-Tasser. *Jurnal Sainstek*, 7(1).
- Farahdika, A., & Azam, M. (2015). Faktor Risiko yang Berhubungan dengan Penyakit Jantung Koroner pada Usia Dewasa Madya (41-60 Tahun) (Studi Kasus di RS Umum Daerah Kota Semarang). *Unnes Journal of Public Health*, 4(2), 117-123. <https://doi.org/https://doi.org/10.15294/ujph.v4i2.5188>
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1), 3-25. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1)
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*, 46(1-3), 3-26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
- Meiyanto, E. (2012). Docking Kurkumin Dan Senyawa Analognya Pada Reseptor Progesteron: Studi Interaksinya Sebagai Selective Progesterone Receptor Modulators (Sprms). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia UMS*, 13(2), 55-60. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v13i2.10>
- Mostafa, M. E., & Abbadly, M. S. (2014). Secondary metabolites and bioactivity of the *Monascus* pigments review article. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 9(1), 1-13. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjbb.2014.9.1.8268>
- Nguyen, T., Karl, M., & Santini, A. (2017). Red Yeast Rice. *Foods*, 6(3), 19. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods6030019>
- Nursamsiar, N., Alprida Tandi, T., & Akbar, A. (2016). Studi in Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon Dan Pirimidin Sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*, 13(01). <https://doi.org/10.30595/pji.v13i1.891>
- Pebriana, R. B., Romadhan, A. F., Yuniyanto, A., & Rokhman, M. R. (2012). Docking Kurkumin dan Senyawa Analognya pada Reseptor Progesteron: Studi Interaksinya sebagai Selective Progesterone Receptor Modulators (SPRMs). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia UMS*, 13(2). <http://hdl.handle.net/11617/970>
- Prasetya, T. (2011). *Simulasi Dinamika Molekul Kompleks Histone Deacetylase (HDAC) Kelas II Homo Sapiens dengan Suberoylanilide Hydroxamic Acid (SAHA) dan Turunannya sebagai Inhibitor Kanker Serviks* Universitas Indonesia. Depok.
- Purnomo, H. (2013). *Kimia Komputasi Uji in Silico Senyawa Antikanker* Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 25
- Raies, A. B., & Bajic, V. B. (2016). In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci*, 6(2), 147-172. <https://doi.org/10.1002/wcms.1240>

- Ruswanto, R. (2015). Molecular docking empat turunan isonicotino hydrazide pada mycobacterium tuberculosis enoyl-acyl carrier protein reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 13. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v13i1.25>
- Sabidó, M., Thilo, H., & Guido, G. (2019). Long-term effectiveness of bisoprolol in patients with angina: A real-world evidence study. *Pharmacol Res*, 139, 106-112. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.10.031>
- Santoso, B., Utomo, R. S., & Wiyoga, M. D. (2016). Analisis hubungan senyawa golongan flavonoid dari 24 famili tanaman terhadap aktivitas penangkap radikalnya. In: . Prosiding Seminar Nasional Kimia, Universitas Jenderal Achmad Yani, Bandung.
- WHO. (2015). *Library Cataloguing - Publication Data. Heart: Technical Pacakege for Cardiovasculer Disease Management in Primary Health Care Switzerland*. WHO Press. Retrieved Des 27 from <https://who.int/tb/data>
- Yuliana, A., Singgih, M., Julianti, E., & Blanc, P. J. (2017). Derivates of azaphilone Monascus pigments. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 9, 183-194. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.12.014>



Quality and antioxidant activity of faloak (*Sterculia quardifida* R.Br.) extract syrup with variations in addition to ginger (*Zingiber officinale* R.)

Kajian kualitas dan aktivitas antioksidan sediaan sirup ekstrak faloak (*Sterculia quardifida* R.Br.) dengan variasi penambahan jahe (*Zingiber officinale* R.)

Priska Ernestina Tenda*, Lely A. V. Kapitan, Maria I. M. Indrawati, Faizal R. Soeharto

Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kupang/Health Polytechnic of Health Ministry Kupang

*Corresponding author: priskafarmasikupang@gmail.com

Abstract

Background: Faloak is known to contain flavonoids, terpenoids, phenols, and tannins, all of which have antioxidant activity. The preparation of faloak in the dosage form of syrup has been completed, but the suboptimal extraction of the active ingredient reduces the antioxidant activity of the syrup. In this study, the syrup was created by macerating extracts of faloak and red ginger, which contain active substances. The quality of the syrup is further evaluated for its antioxidant activity.

Objective: To determine the characteristics of the extract, the quality of the syrup, and the antioxidant activity of the syrup.

Method: During extraction using the maceration technique, both specific and non-specific characteristics of the extract are evaluated. The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method was used to measure antioxidant activity.

Results: The results of testing particular properties revealed that faloak and red ginger extracts contained flavonoids, triterpenoids, phenols, and tannins. The faloak and red ginger extracts had a water content of 5.926 ± 0.116 and 4.270 ± 0.121 , respectively, and a total ash content of 2.430 ± 0.160 and 3.570 ± 0.140 , according to non-specific analyses of the extract. The IC_{50} values for the antioxidant activity of formula 1 and formula 2 syrups were 114.002 ± 0.174 and 107.888 ± 0.115 ppm, respectively.

Conclusion: The addition of red ginger to Faloak syrup increases its antioxidant activity compared to that of the syrup without the addition of red ginger, although both syrups have moderate antioxidant activity.

Keywords: Faloak, syrup, antioxidant, DPPH

Intisari

Latar belakang: Faloak diketahui memiliki kandungan flavonoid, terpenoid, fenol dan tanin yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Penyiapan faloak dalam bentuk sediaan sirup telah dilakukan namun proses penarikan zat aktif yang kurang optimal menurunkan aktivitas antioksidan sirup. Pada penelitian ini sirup diformulasikan dari ekstrak faloak dan jahe merah yang merupakan hasil penarikan zat aktif secara maserasi. Sirup selanjutnya dilakukan uji kualitatif dan aktivitas antioksidannya.

Tujuan: Mengetahui karakteristik ekstrak, kualitas sirup dan aktivitas antioksidannya.

Metode: Ekstraksi menggunakan metode maserasi, dilanjutkan dengan karakterisasi ekstrak yang dinilai dari aspek spesifik dan non spesifik. Aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).

Hasil: Hasil pengujian karakteristik spesifik menunjukkan ekstrak faloak dan jahe merah mengandung flavonoid, triterpenoid, fenol dan tanin. Uji non spesifik ekstrak menunjukkan kadar air ekstrak faloak dan jahe merah berturut-turut sebesar $5,926 \pm 0,116$ dan $4,270 \pm 0,121$ % b/b, sedangkan kadar abu total sebesar $2,430 \pm 0,160$ dan $3,570 \pm 0,140$ % b/b. Aktivitas antioksidan sirup formula 1 dan formula 2 diperoleh nilai IC_{50} berturut-turut sebesar $114,002 \pm 0,174$ dan $107,888 \pm 0,115$ ppm.

Kesimpulan: Sirup faloak dengan penambahan jahe merah memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa penambahan jahe merah meskipun sama-sama berada dalam kisaran aktivitas sedang.

Kata kunci : Faloak, sirup, antioksidan, DPPH

1. Pendahuluan

Adanya paparan radiasi, polutan dan produk samping metabolit obat menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Keadaan ini dapat merusak struktur dan fungsi sel sehingga memicu terjadinya berbagai penyakit serta penuaan dini (Russo *et al.*, 2012). Antioksidan baik endogen maupun eksogen dibutuhkan untuk menangkal radikal bebas yang dapat mengurangi berbagai gangguan seperti: obesitas, hiperglikemi, penuaan, kanker, diabetes, peradangan, penyakit hati, penyakit kardiovaskular, katarak dan gangguan neurodegeneratif (Halliwell, 2012). Antioksidan dapat berasal dari bahan sintetik seperti *butylated hydroxyl anisol* (BHA;320), *butylated hydroxyl toluene* (BHT;E321), *tert-butylhydroquinone* (E-319), dan *propyl gallate* (E-311) namun memiliki efek samping yang belum diketahui dengan jelas sehingga antioksidan dari bahan alam dapat dijadikan sebagai sumber untuk pengembangan antioksidan (Carocho & Ferreira, 2013). Komponen kimia bahan alam yang berpotensi sebagai antioksidan antara lain alkaloid, flavonoid, terpenoid dan tanin (Pisoschi *et al.*, 2016).

Faloak (*Sterculia quardifida*, R.Br.) merupakan tanaman khas yang tumbuh liar pada daerah dengan topografi berbatu karang seperti di pulau Timor Nusa Tenggara Timur. Secara empiris masyarakat lazimnya menggunakan kulit pohon faloak untuk mengobati berbagai penyakit antara lain gangguan fungsi hati, kanker, gastroenteritis, diabetes, rheumatoid arthritis dan pemilihan setelah melahirkan (Siswadi *et al.*, 2013). Pada kajian ilmiah diketahui kulit pohon faloak (*Sterculia quardifida*, R.Br.) mempunyai aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur (Sola & Hafid, 2018), antikanker (Rollando & Prilianti, 2017), antihepatitis C (Dean *et al.*, 2019) dan antiplasmodium (Tenda *et al.*, 2021). Flavonoid merupakan komponen utama kulit faloak yang dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai antioksidan alami (Saragih & Siswadi, 2019).

Masyarakat lazimnya menyiapkan faloak dengan cara merebus kulit faloak segar hingga berwarna merah lalu diminum dan perebusan dapat diulang hingga tidak berwarna (Siswadi *et al.*, 2013). Masyarakat juga mengambil kulit faloak untuk dijual dengan tujuan menambah penghasilan. Keadaan ini tentunya dapat mengancam kelestarian tanaman faloak (Siswadi *et al.*, 2016) dengan demikian faloak perlu diformulasikan menjadi bentuk sediaan yang dapat disimpan lama berupa sirup untuk mengurangi frekuensi pengambilan kulit faloak.

Faloak yang dikembangkan menjadi bentuk sediaan sirup dengan metode maserasi menggunakan air panas dengan waktu perendaman 1 jam ternyata mempunyai aktivitas antioksidan lemah dan kurang disukai karena mempunyai rasa yang sepat (Tenda, 2018). Hal ini disebabkan karena metode ekstraksi dengan menggunakan pemanasan dapat menurunkan potensi

antioksidan (Palimbong *et al.*, 2020), sehingga sirup perlu dibuat dengan mengekstraksi faloak menggunakan metode maserasi cara dingin dengan menambahkan bahan lain untuk menutupi rasa sepatnya.

Dalam menyiapkan faloak, sebagian masyarakat telah menambahkan bahan lain seperti jahe merah untuk meningkatkan cita rasa (Siswadi *et al.*, 2013). Pada pandemi Covid- 19 jahe digunakan untuk mengatasi gangguan pernapasan dan meningkatkan sistem imun pasien positif Covid-19 (Rangnekar *et al.*, 2020). Jahe diketahui memiliki beberapa aktivitas farmakologi salah satunya sebagai antioksidan atas peran fenol dan flavonoidnya (Zahid *et al.*, 2021). Sirup faloak dengan penambahan jahe belum memiliki data ilmiah terkait kualitas dan potensi antioksidannya. Penambahan jahe selain bertujuan untuk memperbaiki cita rasa juga bermanfaat untuk menambah potensi antioksidan yang dihasilkan dari kandungan kimia gingerol dan shogaol (Srikandi *et al.*, 2020). Pada penelitian ini ekstrak faloak diformulasikan menjadi sediaan sirup dengan menambahkan jahe merah (*Zingiber officinale* R.) lalu dilakukan uji kualitas dan diukur aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

2. Metode

2.1. Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan adalah: mesin penghalus serbuk/*grinder*, *orbital shaker* (Stuart Scientific), *rotary evaporator* (Eyela Digital Water Bath SB-1000), *water bath* (Memmert), aluminium foil, kertas saring, krus porselen, alat gelas (pyrex), *magnetic stirrer* (Medline), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu tipe W-1700), neraca analitik Kern (type EW 220-3NM).

Bahan-bahan yang digunakan antara lain kulit pohon faloak, jahe merah, n-heksan (Merk), etanol 70%, sukrosa, metil paraben, sorbitol, Na benzoat, akuades, DPPH pro analis (Sigma), etanol 70% (Bratako), Etanol 95% (Bratako), akuades (Bratoko), asam asetat anhidrat (Merk), Eter (Merk), Serbuk Mg pro analisis (Merk), H₂SO₄.

2.2 Penyiapan sampel dan pembuatan ekstrak

2.2.1 Faloak (Sterculia quardifida R. Br)

Kulit faloak merupakan bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian diambil dari pohon faloak berdiameter lebih dari 30 cm yang tumbuh di Desa Baumata Timur Kabupaten Kupang-NTT. Selanjutnya dilakukan sortasi basah, pencucian menggunakan air mengalir, perajangan, dan pengeringan dengan cara diangin-anginkan, sortasi kering, lalu dibuat serbuk menggunakan mesin *grinder* (Rollando *et al.*, 2020). Ekstraksi faloak menggunakan metode

maserasi dengan pelarut etanol 70% perbandingan 1: 6. Serbuk ditimbang sebanyak \pm 250 g ditambah 1.500 mL etanol 70% dimaserasi selama 72 jam pada suhu kamar dengan pengadukan menggunakan *orbital shaker* (Cepeda *et al.*, 2018). Filtrat dikumpulkan, dipisahkan dari ampasnya, dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 4 rpm dan dilanjutkan dengan penguapan di atas *waterbath* pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental lalu dihitung rendemennya (Praing, 2017).

2.2.2 Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe)

Penyiapan simplisia diawali dengan mengumpulkan rimpang jahe merah segar lalu disortasi basah dan dicuci. Rimpang jahe yang telah bersih dirajang dengan cara membujur (split) lalu dikeringkan pada oven pada suhu 55°C. Simplisia kering selanjutnya dihaluskan dengan cara diblender dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh (Almasyhuri *et al.*, 2012). Serbuk jahe sebanyak 280 g dimaserasi menggunakan etanol 95%. Maserat dipisahkan dari ampasnya menggunakan kertas saring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dilanjutkan pada *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental lalu dihitung rendemennya (Rahmadani *et al.*, 2015).

2.3 Uji karakteristik ekstrak faloak dan jahe merah

Uji karakteritik ekstrak faloak dan ekstrak jahe mengacu pada Farmakope Herbal Indonesia yaitu uji spesifik dan non spesifik.

2.3.1 Uji spesifik ekstrak

a) Uji identitas

Identitas tanaman ditentukan melalui determinasi dengan mengirim tanaman faloak dan jahe merah ke Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA UNPAD.

b) Skrining fitokimia

1) Identifikasi flavonoid

Sebanyak 0,05 g ekstrak dilarutkan dalam 4-5 tetes dari HCl pekat. Hasil tes positif untuk flavon ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau warna merah ungu, sedangkan hasil tes positif untuk flavonon ditunjukkan dengan terbentuknya warna oranye (Dillak *et al.*, 2019).

2) Identifikasi triterpenoid

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 1 mg ditambah 3 mL etanol 70% dan 2 mL H₂SO₄ pekat dan 2 mL asam asetat anhidrat (reagen Liebermann-Burchard). Adanya

perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan terbentuknya warna merah kecoklatan pada antar permukaan menunjukkan adanya triterpenoid.

3) Identifikasi tanin

Ekstrak diambil sebanyak 50 mg, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 2-3 tetes. Terbentuknya larutan berwarna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan ekstrak mengandung tanin.

4) Alkaloid

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dalam kloroform dan amoniak masing-masing 1 mL. Hasil reaksi selanjutnya dipanaskan pada api bunsen, kemudian dikocok dan disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian sama banyak. Pada masing-masing bagian ditambahkan 3 tetes H_2SO_4 2N, dilakukan pengojokan dan didiamkan menjadi terpisah. Supernatan diambil untuk direaksikan dengan beberapa pereaksi dan diamati warna endapannya. Ekstrak positif mengandung alkaloid apabila dengan pereaksi Meyer teridentifikasi adanya endapan jingga, endapan coklat pada pereaksi Wagner dan pada pereaksi Dragendorff terbentuk endapan putih.

5) Saponin

Ekstrak dipanaskan hingga mendidih menggunakan 5 mL akuades dan disaring. Hasil penyaringan dikocok lalu didiamkan selama 15 menit. Ekstrak positif saponin ditunjukkan oleh terbentuknya busa (Rahmadani *et al.*, 2015).

c) Uji organoleptik

Penilaian organoleptik ekstrak dilakukan dengan cara mengamati warna, mencium dan mencoba rasanya (Kemenkes RI, 2017).

2.3.2 Uji non spesifik

Pengujian parameter non spesifik juga dilakukan dengan menilai kadar air dan kadar abu ekstrak.

a) Uji kadar air

Sebanyak kurang lebih 2 g ekstrak ditimbang saksama dimasukkan ke dalam wadah yang telah ditara. Ekstrak selanjutnya dipanaskan dalam oven pada suhu $\pm 105^\circ\text{C}$ selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dan penimbangan dilanjutkan pada selang waktu 1 jam hingga perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,25%.

b) Uji kadar abu total

Ekstrak ditimbang saksama sebanyak 2-3 gram dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara. Sampel dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dalam desikator lalu ditimbang hingga bobot tetap (Kemenkes RI, 2017).

Perhitungan:

$$\text{Kadar abu} = \frac{W_1}{W_2} \times 100\%$$

Keterangan:

W_1 = bobot sampel setelah pengabuan (gram)

W_2 = bobot sampel sebelum pengabuan (gram)

2.4 Pembuatan sirup faloak

Sirup faloak dibuat sebanyak 2 formula antara lain dengan penambahan jahe merah dan tanpa penambahan jahe. Sebanyak 40 g sukrosa dilarutkan dalam akuades dengan pemanasan dibantu *magnetic stirrer* pada suhu 90°C kecepatan 400 rpm. Larutan gula tersebut kemudian ditambahkan 0,24 g metil paraben yang telah dilarutkan sempurna dalam akuades dengan pemanasan menggunakan *magnetic stirrer* lalu diaduk hingga homogen selama 10 menit pada temperatur kamar. Pada tempat lain sorbitol dilarutkan dalam akuades dan ditambahkan lautan sukrosa lalu dicampur dan dihomogenkan selama 5 menit pada suhu 40°C menggunakan *magnetic stirrer*. Sirup faloak dengan penambahan jahe dibuat dengan cara sebanyak 2,7 g ekstrak faloak (Winanta *et al.*, 2019), ditambahkan 2 g ekstrak jahe dan ditimbang 7,5 g ekstrak faloak untuk formula tanpa penambahan jahe. Masing-masing formula dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit. Selanjutnya, natrium benzoat sebanyak 0,2 g ditambahkan dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Terakhir, akuades ditambahkan hingga 100 mL (Rollando *et al.*, 2020).

2.5 Evaluasi kualitas sirup faloak

Uji kualitas masing-masing formula sirup meliputi uji organoleptik dengan cara melihat warna, mencium dan mencoba rasa sirup. Uji kualitas sirup lain yang dilakukan adalah uji pH menggunakan alat pH meter, uji Bj sirup menggunakan piknometer sedangkan uji viskositas tidak dilakukan karena sirup mudah dituang.

2.6 Uji aktivitas antioksidan sirup faloak

Sirup faloak diukur aktivitas antioksidannya menggunakan metode 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan sampel untuk menghambat

radikal bebas DPPH dengan mendonorkan atom H membentuk senyawa yang tidak radikal (Amin *et al.*, 2015). Pengujian ini didahului dengan penyiapan larutan DPPH 0,5 mM dilanjutkan dengan penetapan λ maksimum. Penyiapan larutan induk 1000 ppm dilakukan dengan melarutkan sirup faloak dalam etanol pro analis. Larutan uji dibuat sebanyak 4 seri konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm lalu masing-masing diambil 4 mL ditambahkan pereaksi DPPH sebanyak 1 mL, dimasukkan dalam vial dan dikocok. Campuran larutan didiamkan selama 30 menit dalam ruangan tanpa cahaya, kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517,80 nm. Prosedur ini juga dikerjakan untuk larutan blanko dan pembandingan vitamin C (Tenda, 2018). Persentase peredaman radikal bebas DPPH dihitung berdasarkan nilai absorbansinya dengan rumus:

$$\% \text{ Peredaman} = \left[\frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs blanko}} \right] \times 100\%$$

Keterangan:

Abs blanko= absorbansi blanko

Abs sampel = absorbansi sampel

Efek peredaman radikal bebas DPPH (persen peredaman) sirup faloak dinyatakan dengan IC_{50} dan dihitung menggunakan analisis regresi linear $y = ax + b$ yang merupakan hubungan antara x (log konsentrasi) dan y (probit). Nilai IC_{50} sebagai konsentrasi efektif sampel dalam meredam 50% dari total DPPH diperoleh dari persamaan regresi linear tersebut dengan mensubstitusikan nilai y sebagai persen peredaman 50% (Amin *et al.*, 2015).

3. Hasil dan pembahasan

Evaluasi terkait kualitas dan aktivitas antioksidan sirup faloak dilakukan melalui beberapa tahap penelitian. Tahapan yang dilakukan antara lain: penentuan karakteristik bahan dilanjutkan dengan pembuatan sirup dan uji kualitas sirup serta uji aktivitas antioksidannya.

3.1 Penentuan karakteristik ekstrak

Penentuan karakteristik bahan merupakan hal yang penting dilakukan untuk menilai tingkat kualitas bahan sesuai standar yang ditetapkan berdasarkan dua parameter yaitu spesifik dan non spesifik (Kemenkes RI, 2017). Penilaian untuk parameter spesifik diantaranya identitas, organoleptik dan kandungan kimia ekstrak seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter spesifik ekstrak faloak dan jahe merah

No	Parameter pengujian	Hasil	
		Faloak	Jahe merah
1	Identitas tumbuhan Nama Ilmiah Sinonim Nama Lokal Famili	<i>Sterculia quardifida</i> R.Br <i>Sterculia quardifida</i> G. Faloak Malvaceae	<i>Zingiber officinale</i> R. <i>Zingiber officinale</i> var. Rubrum Theilade Jahe Merah Zingiberaceae
2	Organoleptik	ekstrak kental, warna coklat, berbau khas dengan rasa agak sepat	cairan kental berwarna coklat gelap, bau khas jahe, rasa pedas
3	Kandungan kimia ekstrak	Flavonoid, triterpenoid, fenol, tanin	alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, tannin

Determinasi tumbuhan faloak dan jahe merah untuk menentukan kebenaran identitas tumbuhan dilakukan di Herbarium Jatiningor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA UNPAD. Hasil determinasi menunjukkan tumbuhan yang digunakan adalah *Sterculia quardifida* R. Br dengan famili Malvaceae dan *Zingiber officinale* Roscoe dari famili Zingiberaceae. Bagian tanaman yang digunakan sebagai sampel adalah kulit faloak dan rimpang jahe merah. Kedua sampel masing-masing dimaserasi menggunakan pelarut etanol diperoleh hasil sejalan dengan penelitian sebelumnya. Ekstrak faloak berwarna merah kecokelatan dengan rasa sedikit sepat (Dillak *et al.*, 2019), dan ekstrak jahe merah berupa cairan kental berwarna coklat gelap, bau khas jahe dengan rasa pedas (Srikandi *et al.*, 2020).

Skrining fitokimia dengan reaksi warna juga dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak. Hasil skrining menunjukkan kedua ekstrak positif mengandung flavonoid, triterpenoid, dan tanin yang didukung oleh hasil penelitian sebelumnya. Keberadaan flavonoid dalam ekstrak faloak diperkuat oleh adanya nilai total flavonoid sebesar $62,76 \pm 4,84$ mg /g sampel paling tinggi dibandingkan bagian akar, daun, buah dan biji serta menyebabkan warna merah pada ekstrak. Hasil identifikasi dengan reaksi warna menunjukkan ekstrak jahe merah juga positif mengandung flavonoid sesuai dengan penelitian sebelumnya total flavonoid jahe merah lebih tinggi dibandingkan jahe lainnya (Zhang *et al.*, 2022). Ekstrak faloak dan jahe juga positif mengandung fenol, hal ini diperkuat penelitian Dillak *et al.* (2019) total fenol $59,64 \pm 9,64$ mg /g sampel. Senyawa fenol pada jahe antara lain gingerol, shogaol, dan paradol (Mao *et al.*, 2019), yang memberikan rasa pedas pada jahe (Zhang *et al.*, 2022). Flavonoid dan senyawa fenolik merupakan antioksidan alami yang dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (Siswadi *et al.*, 2013).

Golongan terpenoid antara lain triterpen, steroid, glikosida and saponin. Kandungan saponin faloak berada dalam ekstrak etanol namun tidak ditemukan pada fraksi ekstrak (Darojati *et*

al., 2022). Senyawa terpenoid pada jahe merah bersifat volatil yang memberikan aroma khas pada jahe merah yang berkhasiat antioksidan (Mao *et al.*, 2019). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak mengandung triterpen dan saponin ditandai adanya pembentukan busa yang stabil. Komponen kimia metabolit sekunder lain dari golongan fenol dengan ciri memiliki rasa sepat adalah tanin dan memiliki aktivitas antioksidan (Szcurek, 2021). Ekstrak etanol faloak dan jahe positif mengandung tanin yang ditandai dengan terbentuknya warna cokelat kehijauan. Fenol, flavonoid, serta tanin merupakan golongan fenolik dibuktikan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi (Sedjati *et al.*, 2017). Parameter non spesifik ekstrak antara lain kadar air dan kadar abu total juga ditentukan seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian parameter non spesifik ekstrak Faloak dan jahe merah

Parameter	Hasil (% b/b)		Syarat Mutu (%)
	Faloak	Jahe	
Kadar air	5,926 ± 0,116	4,270 ± 0,121	10
Kadar abu total	2,430 ± 0,160	3,570 ± 0,140	5

Penentuan kadar air bertujuan untuk mengetahui sisa air setelah proses pengeringan dan merupakan salah satu syarat kemurnian ekstrak. Kadar air ekstrak faloak dan jahe masing-masing kurang dari 10% dan memenuhi syarat mutu yang ditetapkan. Kadar air yang tinggi dapat menurunkan aktivitas biologi ekstrak akibat kontaminasi mikroorganisme seperti jamur dan bakteri (Kemenkes RI, 2017). Uji kadar abu total bertujuan untuk mendapatkan gambaran kandungan mineral selama proses pembuatan ekstrak. Kadar abu total ekstrak faloak dan jahe merah sebesar 3,430 ± 0,160 dan 2,570 ± 0,140 % yang telah memenuhi syarat yang ditetapkan. Sifat ekstrak dapat dipengaruhi oleh keberadaan mineral yang terdapat pada ekstrak (Kemenkes RI, 2017). Rendemen ekstrak juga dihitung dengan tujuan untuk mengetahui sisa jumlah bahan serta keefektifan proses ekstraksi (Dotulong, Wonggo & Montolalu, 2021). Hasil perhitungan rendemen ekstrak faloak dan ekstrak jahe sebesar diperoleh sebesar 8,848 dan 7,520 % memenuhi syarat yang ditetapkan kurang dari 10% (Kemenkes RI, 2017).

3.2 Pembuatan sirup dan uji kualitas sirup

Ekstrak faloak dan jahe merah larut dalam air sehingga cocok diformulasikan menjadi sediaan sirup, tidak perlu sediaan eliksir dengan penambahan alkohol. Formula sediaan sirup merupakan modifikasi hasil penelitian Winanta *et al.* (2019) dan Rollando *et al.* (2020) dan dibuat dalam dua formula dengan variasi komposisi bahan seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Formula sediaan sirup

Bahan	Konsentrasi bahan	
	Formula 1	Formula 2
Ekstrak faloak (g)	2,7	-
Ekstrak jahe (g)	2,7	0,8
Sukrosa (g)	40	40

Bahan	Konsentrasi bahan	
	Formula 1	Formula 2
Metil paraben (%b/v)	0,1	0,1
Sorbitol (g)	15,35	15,35
Na benzoate (g)	0,2	0,2
Akuades ad	100 mL	100 mL

Sirup dibuat menggunakan ekstrak faloak dan ekstrak jahe. Penambahan jahe bertujuan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan juga memberi rasa yang khas pada sediaan dan merupakan hasil modifikasi penelitian sebelumnya (Tenda, 2018). Sediaan selanjutnya dievaluasi mutunya meliputi uji organoleptis, pH dan bobot jenis. Evaluasi organoleptik dilakukan oleh peneliti dengan menilai tampilan sediaan meliputi warna, bau dan rasa. Hasil uji organoleptis menunjukkan formula 1 berwarna coklat, aroma khas ekstrak dengan rasa manis agak sejalan dengan penelitian (Tenda, 2018). Sirup formula 2 memiliki rasa manis, berwarna coklat dengan aroma dan rasa khas jahe. Menurut Srikandi *et al.* (2020) kandungan gingerol dan shogaol berperan terhadap aroma dan rasa pada jahe merah.

Pengukuran nilai pH juga merupakan salah satu parameter untuk menilai kualitas sediaan farmasi. Penilaian ini penting dilakukan berkaitan dengan keawetan sediaan, dimana mikroorganisme sulit tumbuh dalam suasana asam (Atmodjo, 2018). Selain itu pH sediaan mempengaruhi tingkat kesukaan konsumen karena dapat mempengaruhi rasa apabila terjadi perubahan yang signifikan (Muhyiddin *et al.*, 2017). Hasil pengukuran pH masing-masing formula sirup seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengukuran pH dan bobot jenis sirup

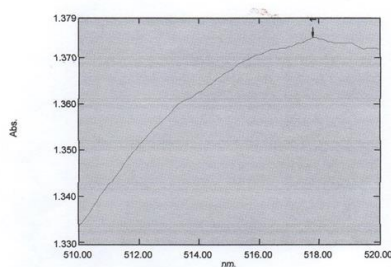
Parameter uji	Formula 1	Formula 2
pH	5	4,7
Bobot jenis (g/mL)	1,095 ± 0,030	1,204 ± 0,010

Nilai pH sirup faloak dan faloak dengan penambahan jahe merah memenuhi syarat yang ditetapkan masing-masing 5 dan 4,7. Pada formula sirup dengan penambahan jahe merah terjadi penurunan nilai pH. Hal ini disebabkan oleh sifat keasaman jahe merah yang ditambahkan ke dalam sediaan sirup. Penelitian Hakim *et al.* (2021) menunjukkan bahwa pH kefir susu kambing memenuhi syarat yang ditetapkan setelah ditambahkan ekstrak jahe merah. Bobot jenis merupakan parameter non spesifik lain dalam menentukan kemurnian zat dalam bentuk cairan serta memberikan gambaran kandungan kimia terlarut pada sediaan. Pengukuran bobot jenis sirup menggunakan piknometer dan diperoleh hasil seperti pada Tabel 4 diatas. Bobot jenis masing-masing formula menunjukkan hasil yang berbeda disebabkan komposisi formula sirup serta pembawa yang digunakan. Pada penelitian ini menggunakan pembawa akuades sedangkan

pada penelitian lain dengan menggunakan pembawa gliserin atau propilenglikol menghasilkan sirup dengan bobot jenis memenuhi syarat 1,3 g/mL (Rustiani *et al.*, 2021).

3.3 Uji aktivitas antioksidan sirup

Aktivitas antioksidan sirup diukur menggunakan metode DPPH dengan prinsip warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa pereduksi dengan mendonorkan atom hidrogen menjadi berkurang atau hilang dan membentuk senyawa difenilpikrihidrazin yang warna kuning pucat. Intensitas warna ungu tersebut diukur menggunakan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang maksimum DPPH (Musa *et al.*, 2016). Langkah awal penelitian dilakukan pengukuran absorbansi panjang gelombang maksimum DPPH dengan hasil seperti pada Gambar 1.



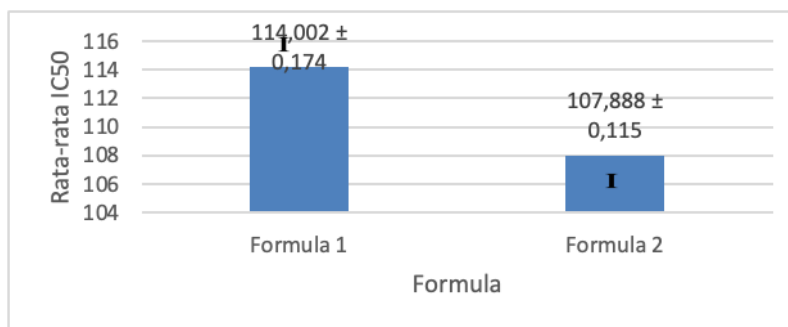
Gambar 1. Panjang gelombang maksimum DPPH

Panjang gelombang maksimum DPPH ditetapkan dengan tujuan untuk mengetahui serapan maksimumnya. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH sebesar 517,80 nm. Menurut Musa *et al.* (2016) kisaran panjang gelombang maksimum pengukuran sampel menggunakan metode DPPH berada sekitar 515-520 nm. Kemampuan sirup faloak sebagai antioksidan dinilai berdasarkan berkurangnya warna ungu larutan DPPH yang dibaca sebagai absorbansi pada spektrofotometer (Tenda, 2018). Atom H yang dilepaskan oleh bahan uji akan bereaksi dengan radikal DPPH membentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrihidrazil yang berwarna kuning. Intensitas warna ini meningkat oleh penambahan konsentrasi bahan uji sebaliknya warna ungu semakin berkurang atau hilang dan terbaca sebagai absorbansi yang selanjutnya dapat dikuantitatifkan. Absorbansi yang semakin kecil menunjukkan semakin besar kemampuan bahan uji dalam meredam radikal bebas DPPH (Tristantini *et al.*, 2016). Data abasorbansi selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase peredaman radikal DPPH dengan hasil perhitungan seperti pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Persentase peredaman sirup faloak terhadap DPPH

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Persen Peredaman \pm SD (%)	
	Formula 1	Formula 2
20	36,830 \pm 0,176	30,230 \pm 0,120
40	42,272 \pm 0,151	39,220 \pm 0,113
60	56,369 \pm 0,262	48,310 \pm 0,104
80	60,769 \pm 0,117	50,480 \pm 0,116
100	74,254 \pm 0,166	59,770 \pm 0,123

Berdasarkan data pada Tabel 5 dapat diketahui bahwa peningkatan konsentrasi sirup faloak berbanding lurus dengan rata-rata persentase peredamannya. Kedua formula memiliki rata-rata persen peredaman paling tinggi pada konsentrasi 100 ppm. Aktivitas antioksidan sirup dinyatakan dengan nilai IC_{50} yang menunjukkan kemampuan sirup dalam meredam radikal bebas DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} yang kecil menunjukkan aktivitas antioksidannya semakin kuat demikian sebaliknya seperti pada Gambar 2.

**Gambar 2.** Nilai IC_{50} sirup faloak

Proses penarikan zat aktif mempengaruhi jumlah zat aktif yang berperan sebagai antioksidan. Pemanasan dengan suhu lebih dari 60°C dapat merusak senyawa antioksidan yang tidak tahan terhadap pemanasan sebaliknya penarikan zat aktif dengan cara maserasi meningkatkan aktivitas antioksidan (Jing *et al.*, 2015). Pada pembuatan sirup dengan cara perebusan menggunakan pemanasan langsung ternyata menyebabkan aktivitas antioksidan menjadi sangat lemah dengan rata-rata nilai IC_{50} sebesar 1,231 ppm (Tenda, 2018). Berdasarkan data di atas menunjukkan sirup faloak formula 1 dengan komposisi bahan utama faloak diperoleh IC_{50} sebesar 114,002 \pm 0,174 ppm serta pada formula 2 dengan penambahan jahe sebesar 107,888 \pm 0,115 ppm. Nilai tersebut menyatakan bahwa sirup faloak memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan kisaran nilai IC_{50} antara 100 ppm sampai 150 ppm (Musa *et al.*, 2016). Vitamin C murni digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini dan diperoleh IC_{50} sebesar 11,749 \pm 0,202. Vitamin C dibuktikan mempunyai potensi aktivitas antioksidan sangat kuat akibat stress oksidatif (Dotulong *et al.*, 2021).

Kemampuan aktivitas antioksidan sirup faloak dihubungkan dengan adanya kontribusi dari beberapa senyawa antara lain flavonoid, fenol dan tanin yang terdapat pada faloak dan jahe merah. Senyawa-senyawa tersebut melepaskan atom H dan membentuk molekul DPPH yang bersifat stabil. Adanya gugus OH pada flavonoid yang merupakan golongan fenol juga berperan dalam menyumbangkan atom H untuk menstabilkan radikal DPPH (Dillak *et al.*, 2019). Tanin memiliki cincin aromatik dengan gugus hidroksil juga ikut berperan dalam meredam radikal bebas DPPH (Szcurek, 2021). Penambahan jahe merah pada formula 2 meningkatkan aktivitas antioksidan meskipun berada dalam kisaran nilai IC_{50} yang sama dengan rasa khas jahe yang dapat menutupi rasa sepat dari faloak. Menurut Mao *et al.* (2019) kandungan shogaol termasuk golongan fenol sebagai hasil konversi gingerol juga memiliki aktivitas antioksidan dan memberi rasa khas pada jahe.

4. Kesimpulan

Ekstrak faloak dan ekstrak jahe dengan pembawa akuades membentuk sediaan sirup dengan kualitas pH yang baik namun tidak memenuhi syarat bobot jenis sedangkan uji viskositas tidak dilakukan karena sediaan mudah dituang. Jahe merah mampu menaikkan aktivitas antioksidan sirup faloak meskipun berada pada kisaran kekuatan sedang. Sirup faloak formula 1 dengan komposisi bahan utama faloak diperoleh IC_{50} sebesar $114,002 \pm 0,174$ ppm sedangkan formula 2 dengan penambahan jahe memperlihatkan peningkatan aktifitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $107,888 \pm 0,115$ ppm.

Daftar pustaka

- Almasyhuri, A., Wardatun, S., & Nuraeni, L. (2012). Perbedaan cara Pengirisan dan Pengeringan terhadap Kandungan Minyak Atsiri dalam Jahe Merah (*Zingiber Officinale Roscoe.sunti Valetton*). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 40(3), 123-129. doi:<https://doi.org/10.22435/bpk.v40i3>
- Amin, A., Wunas, J., & Anin, Y. M. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (*Sterculia Quadrifida R. Br*) dengan Metode DPPH (2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 111-114. doi:<https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.180>
- Atmodjo, K. (2018). Optimalisasi Gula Cair dan pH Medium untuk Fermentasi Alkohol dari Jus *Curucuma xanthorhiza*. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 2(3), 97-104. doi:<https://doi.org/10.24002/biota.v2i3.1885>
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A Review on Antioxidants, Prooxidants and Related Controversy: Natural and Synthetic Compounds, Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
- Cepeda, G. N., Lisangan, M. M., Roreng, M. K., Permatasari, E. I., Manalu, D. C., & Tanlain, W. (2018). Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dan Kemampuan Reduksi Ekstrak Kulit Kayu Akway

- (Drimys piperita Hook. f.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 7(4), 168-173. doi:<https://doi.org/10.17728/jatp.3239>
- Darojati, U. A., Murwanti, R., & Hertiani, T. (2022). Sterculia Quadrifida R. Br: A Comprehensive Review of Ethnobotany, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(1). doi:<https://doi.org/10.20961/jpscr.v7i1.52244>
- Dean, M., Handajani, R., & Khotib, J. (2019). Faloak (Sterculia Quadrifida R. Br) Stem Bark Extract Inhibits Hepatitis C Virus JFH1. *Oriental Journal of Chemistry*, 35(1), 430-435. doi:<http://dx.doi.org/10.13005/ojc/350155>
- Dillak, H. I., Kristiani, E. B. E., & Kasmiyati, S. (2019). Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of Faloak (Sterculia quadrifida). *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 11(3), 296-303. doi:<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v11i3.20736>
- Dotulong, V., Wonggo, D., & Montolalu, L. A. D. Y. (2021). Evaluation of Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of Water, Ethyl Acetate and Hexane Fractions from the Mangrove Young Leaves Sonneratia Alba. *Chemical Science International Journal*, 30(2), 23-32. doi:<https://doi.org/10.9734/csji/2021/v30i230215>
- Hakim, G. L., Nefasa, A. N., & Abdurrahman, Z. H. (2021). Pengaruh Penambahan Ekstrak Jahe Merah (Zingiber Officinale Var. Rubrum) terhadap Kualitas Organoleptik dan PH Kefir Susu Kambing. *Tropical Animal Science*, 3(1), 19-25. doi:<https://doi.org/10.36596/tas.v3i1.724>
- Halliwell, B. (2012). Free Radicals and Antioxidants: Updating A Personal View. *Nutrition Reviews*, 70(5), 257-265. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x>
- Jing, C.-L., Dong, X.-F., & Tong, J.-M. (2015). Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Flavonoid Compounds and Antioxidants from Alfalfa Using Response Surface Method. *Molecules*, 20(9), 15550-15571. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules200915550>
- Kemenkes_RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. In. Retrieved from <https://farmalkes.kemkes.go.id/2020/08/farmakope-herbal-indonesia-edisi-ii-tahun-2017-3/>
- Mao, Q.-Q., Xu, X.-Y., Cao, S.-Y., Gan, R.-Y., Corke, H., Beta, T., & Li, H.-B. (2019). Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (Zingiber officinale Roscoe). *Foods*, 8(6), 185. doi:<https://doi.org/10.3390/foods8060185>
- Muhyiddin, M. F., Azis, Y. M. r. F., & Harismah, K. (2017). *Analisis Organoleptik dan pH terhadap Kualitas Sirup Stevia Aroma Cengkeh (Syzygium aromaticum)*. Paper presented at the Proceeding 6th University Research Colloquium 2017: Seri Teknologi dan Rekayasa.
- Musa, K. H., Abdullah, A., & Al-Haiqi, A. (2016). Determination of DPPH Free Radical Scavenging Activity: Application of Artificial Neural Networks. *Food Chemistry*, 194, 705-711. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.038>
- Palimbong, S., Mangalik, G., & Mikasari, A. L. (2020). Pengaruh Lama Perebusan terhadap Daya Hambat Radikal Bebas, Viskositas dan Sensori Sirup Secang (Caesalpinia Sappan L.). *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 11(1), 7-15. doi:<https://doi.org/10.35891/tp.v11i1.1786>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016). Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxidative Medicine Cellular Longevity*, 2016, 36. doi:<https://doi.org/10.1155/2016/9130976>
- Praing, R. K. A. (2017). *Efek Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak (Sterculia quadrifida R.Br) terhadap Radikal Bebas DPPH (in Vitro) dan Aktivitas Enzim Glutation Peroksidase pada Tikus Diabetes*. Skripsi, Universitas Setia Budi: Surakarta.
- Rahmadani, S., Sa'diah, S., & Wardatun, S. (2015). Optimasi Ekstraksi Jahe Merah (Zingiber Officinale Roscoe) dengan Metode Maserasi. *Jurnal Online Mahasiswa Bidang Farmasi*, 1(1).

- Rangnekar, H., Patankar, S., Suryawanshi, K., & Soni, P. (2020). Safety and Efficacy of Herbal Extracts to Restore Respiratory Health and Improve Innate Immunity in COVID-19 Positive Patients with Mild to Moderate Severity: A Structured Summary of A Study Protocol for A Randomised Controlled Trial. *Trials*, 21(1), 943. doi:<https://doi.org/10.1186/s13063-020-04906-x>
- Rollando, R., Mauren, E., Eva, M., & Siswadi, S. (2020). Immunomodulatory Activity Test of Syrup Dosage Form of Combination Phyllanthus Niruri Linn. and Sterculia Quadrifida R. Br. Extract. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(1), 191-199. doi:<https://doi.org/10.26452/ijrps.v11i1.1806>
- Rollando, R., & Prilianti, K. R. (2017). Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Faloak (Sterculia Quadrifida R. Br) Menginduksi Apoptosis dan Siklus Sel pada Sel Kanker Payudara T47D. *Journal of Pharmaceutical Sciences & Community*, 14(1), 1-14. doi:<http://dx.doi.org/10.24071/jpsc.141557>
- Russo, G., Liguori, I., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2012). Oxidative Stress and Diseases. *Oxidative Stress and Diseases*, 757-772. doi:<https://doi.org/10.5772/2535>
- Rustiani, E., Anita, R., & Effendi, M. (2021). *Pengembangan Sediaan Sirup Ekstrak Rumput Kebar (Biophytum petersianum) Sebagai Estrogenik Dengan Variasi Jenis Pemanis*. Paper presented at the Prosiding Seminar Nasional UNIMUS, Bogor.
- Saragih, G. S., & Siswadi, S. (2019). Antioxidant Activity of Plant Parts Extracts from Sterculia Quadrifida R. Br. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(7), 143-148. doi:<https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i7.33261>
- Sedjati, S., Suryono, S., Santosa, A., Supriyantini, E., & Ridlo, A. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Senyawa Fenolik Makroalga Coklat Sargassum sp. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20(2), 124-130. doi: <https://doi.org/10.14710/jkt.v20i2.1737>
- Siswadi, S., Pujiono, E., Rianawati, H., & Saragih, G., Serepina. (2016). *Nilai Ekonomi Kulit Batang Pohon Faloak (Sterculia quadrifida R.Br.)*. Paper presented at the Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences.
- Siswadi, S., Saragih, G. S., & Rianawati, H. (2013, 5-6 Juli). *Potential Distributions and Utilization of Faloak (Sterculia quadrifida R.Br 1844) on Timor island, East Nusa Tenggara*. Paper presented at the Conference: Forest and Biodiversity, Manado.
- Sola, M. A. W. M., & Hafid, A. F. (2018). The Activity of Faloak Plants in Various Diseases: Review of Research. *Scientific Journal Impact Factor (SJIF)*, 2(2), 6-9. doi:<https://doi.org/10.15373/22501991>
- Srikandi, S., Humaeroh, M., & Sutamihardja, R. (2020). Kandungan Gingerol dan Shogaol dari Ekstrak Jahe Merah (Zingiber Officinale Roscoe) dengan Metode Maserasi Bertingkat. *Al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 7(2), 75-81. doi:<https://doi.org/10.15575/ak.v7i2.6545>
- Szczurek, A. (2021). Perspectives on Tannins. *Biomolecules*, 11(3), 442. doi:<https://doi.org/10.3390/biom11030442>
- Tenda, P. E. (2018). *Antioxidant Activity and Quality Test of Faloak syrup (Sterculia quadrifida R.Br.)*. Paper presented at the Proceeding 1st. International Conference Health Polytechnic of Kupang.
- Tenda, P. E., Hilaria, M., & Ramadani, A. P. (2021). Antiplasmodial Activity of Faloak Bark (Sterculia Quadrifida, R. Br.) Extract from East Nusa Tenggara, Indonesia. *Indonesian Journal of Pharmacology Therapy*, 2(2), 67-73. doi:<https://doi.org/10.22146/ijpther.1975>
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016, 17 Maret). *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops Elengi L)*. Paper presented at the Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan", Yogyakarta.

- Winanta, A., Hertiani, T., Purwantiningsih, P., & Siswadi, S. (2019). In vivo Immunomodulatory Activity of Faloak Bark Extract (*Sterculia quadrifida* R.Br). *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 22(12), 590-596. doi:<https://doi.org/10.3923/pjbs.2019.590.596>
- Zahid, N. A., Jaafar, H. Z., & Hakimian, M. (2021). Micropropagation of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) 'Bentong' and Evaluation of Its Secondary Metabolites and Antioxidant Activities Compared with the Conventionally Propagated Plant. *Plants*, 10(4), 630. doi:<https://doi.org/10.3390/plants10040630>
- Zhang, S., Kou, X., Zhao, H., Mak, K.-K., Balijepalli, M. K., & Pichika, M. R. (2022). *Zingiber officinale* var. *Rubrum*: Red ginger's Medicinal Uses. *Molecules*, 27(3), 775. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules27030775>



Drug utilization pattern and cost estimates of antihypertensive drugs in pharmacies BPJS Kesehatan back-referral program in Kudus Regency

Pola penggunaan obat dan biaya obat antihipertensi pada apotek program rujuk balik BPJS Kesehatan di Kabupaten Kudus

Wildayanti*¹, Tri Wijayanti¹, Tri Murti Andayani²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta

²Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

*Corresponding author: wildayanti0912@gmail.com

Abstract

Background: Hypertension is one of the main causes of mortality and morbidity in Indonesia. Drug usage, utilization patterns, and cost estimates are important elements in calculating drug needs in the forecasting of drug needs plans for pharmacies.

Objective: to determine the pattern of drug use with the Anatomical Therapeutic Chemical (ATC)/Defined Daily Dose (DDD) and Drug Use 90% (DU90%) methods and the estimated cost of antihypertensives with the use of antihypertensive drugs based on the national formulary.

Methods: This research uses observational methods using a cross-sectional design. Retrospective data collection includes prescription from BPJS Kesehatan back-referral program (PRB) which goes into pharmacy A, B, and C for the period 2020.

Results: The most widely used drugs at pharmacy A, B and C based on ATC/DDD classification were amlodipine, candesartan, ramipril, hydrochlorothiazide, and lisinopril. Amlodipine was the most frequent drug in the DU segment 90%. The highest cost of using the drug was candesartan 16 mg (Rp 4,381,531). The percentages of adherence to the use of antihypertensive drugs with the national formulary in pharmacy A, B, and C were 73.91%, 80%, and 68.42%, respectively.

Conclusion: In general, the highest consumption of antihypertensive drugs in Back-Referral Program (PRB) pharmacies in the area of Kudus Regency, which is included in the DU segment 90%, was amlodipine, and the suitability of drugs with the National Formulary has not reached 100%. Referring to the results of the pattern of use of PRB drugs in this study, it is hoped that there will be better coordination between BPJS Kesehatan and pharmacies regarding the distribution and availability of PRB drugs.

Keywords: ATC/DDD, DU 90%, hypertension, national formulary, PRB

Intisari

Latar belakang: Hipertensi merupakan salah satu penyebab utama mortalitas dan morbiditas di Indonesia. Pola pemakaian obat dan perkiraan biaya merupakan elemen penting dalam menghitung rencana kebutuhan obat di apotek.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola penggunaan obat dengan metode *Anatomical Therapeutic Chemical (ATC)/ Defined Daily Dose (DDD)*, DU 90%, perkiraan biaya antihipertensi dan kesesuaian penggunaan obat antihipertensi dengan Formularium Nasional (Fornas).

Metode: Penelitian menggunakan metode observasional dengan desain *cross sectional*. Pengumpulan data dilakukan secara retrospektif meliputi resep Program Rujuk Balik (PRB) yang masuk ke apotek A, B dan C pada periode 2020.

Hasil: Penggunaan obat di apotek A, B dan C berdasarkan ATC/DDD yang banyak digunakan yaitu amlodipin, candesartan, ramipril, hidroklorotiazid dan lisinopril. Segmen DU 90% penggunaan obat tertinggi adalah amlodipin dan biaya penggunaan obat tertinggi yaitu candesartan 16mg sebesar Rp4.381.531,00. Persentase kesesuaian penggunaan obat antihipertensi dengan Fornas pada apotek A, B, dan C yaitu 73,91%, 80%, dan 68,42%.

Kesimpulan: Secara umum konsumsi obat antihipertensi terbanyak di apotek PRB Kabupaten Kudus yang masuk dalam segmen DU 90% adalah amlodipin serta kesesuaian obat dengan Fornas belum mencapai 100%. Merujuk pada hasil pola penggunaan obat PRB pada penelitian ini, diharapkan adanya koordinasi yang lebih baik antara BPJS Kesehatan dengan pihak apotek mengenai distribusi dan ketersediaan obat PRB.

Kata kunci: ATC/DDD, DU 90%, hipertensi, formularium nasional, PRB

1. Pendahuluan

Badan Penyelenggara Jaminan Sosial (BPJS) Kesehatan adalah badan penyelenggara jaminan kesehatan sosial yang bertanggung jawab atas penyelenggaraan kesehatan perseorangan seluruh rakyat Indonesia. Tujuan BPJS Kesehatan adalah memberikan jaminan kesehatan kepada masyarakat sebagai kebutuhan dasar bagi seluruh warga negara Indonesia. Mitra BPJS Kesehatan adalah dengan fasilitas kesehatan berkualitas untuk memberikan pelayanan medis berkualitas. Salah satu program utama dari BPJS Kesehatan yaitu Program Rujukan Balik (PRB). Hal ini dapat meningkatkan kualitas pelayanan bagi peserta dan mempermudah akses pelayanan medis bagi pasien sakit kronis dalam kondisi stabil, berdasarkan rekomendasi ahli/subspesialis. Pasien PRB dapat memperoleh obatnya di apotek jaringan BPJS Kesehatan/apotek penyalur. Regulasi pelayanan obat PRB antara lain obat PRB diberikan sesuai permintaan selama 30 hari dan sesuai dengan daftar formularium nasional (Fornas) (BPJS Kesehatan, 2014).

Hipertensi merupakan penyakit yang menyebabkan tekanan darah *diastole* meningkat ≥ 90 mmHg dan *sistole* ≥ 190 mmHg (Unger *et al.*, 2020). Profil kesehatan tahun 2019 dari Dinas Kesehatan Jawa Tengah menunjukkan bahwa hipertensi masih menempati proporsi tertinggi dari semua Penyakit Tidak Menular (PTM) yang dilaporkan yaitu sebesar 68,6% (Dinas Kesehatan, 2019). Penyakit ini menjadi prioritas utama pengendalian PTM di Jawa Tengah dan jika tidak dikelola dengan baik maka akan menyebabkan berbagai komplikasi. Hal ini dapat dicegah dengan cara mengontrol tekanan darah (Unger *et al.*, 2020). Oleh karena itu, tujuan akhir dari evaluasi penggunaan obat adalah untuk menilai kerasionalan penggunaan obat-obatan secara umum. Hal tersebut dilakukan dengan melihat pola, kuantitas dan kualitas penggunaan obat, serta faktor-faktor yang mempengaruhi penggunaan obat. Selain deteksi dini penggunaan obat yang tidak tepat di masyarakat, penilaian penggunaan obat juga dapat menjadi alat deteksi dini masalah terkait penggunaan obat dalam hal kepatuhan terhadap Fornas (Kemenkes RI, 2017).

Di era Jaminan Kesehatan Nasional (JKN), Evaluasi Penggunaan Obat (EPO) menjadi salah satu bentuk monitoring dan evaluasi pelayanan kefarmasian untuk pengendalian mutu. Pola penggunaan obat antihipertensi pada pasien PRB merupakan puncak penggunaan obat yang dapat dijadikan patokan perencanaan dan pengadaan obat. Selain itu, dapat digunakan untuk membuat Rencana Kebutuhan Obat (RKO), sehingga membutuhkan proses pemilihan obat berdasarkan kebutuhan pola konsumsi untuk mencapai penggunaan obat (Adolof *et al.*, 2019). Metode EPO adalah metode identifikasi dan analisis yang melibatkan perbandingan penggunaan obat antara dua obat, membandingkan penggunaan obat dengan nilai yang berbeda. *Drug Use Rating* dapat dilihat dari pola penggunaan obat dengan cara menilai obat yang termasuk dalam *Drug Use 90%* (DU90%). Satuan

EPO yang direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO) adalah metode *Anatomical Therapeutic Chemical* (ATC)/*Defined Daily Dose* (DDD). Sistem klasifikasi ATC/DDD adalah sistem penilaian kualitatif dan kuantitatif pola penggunaan obat (Lewandowski *et al.*, 2015).

Beberapa penelitian terkait EPO antihipertensi pernah dilakukan diantaranya oleh Sembada *et al.* (2016), analisis data penelitian ini dengan deskriptif serta penelitian lain dengan menggunakan metode ATC/DDD dan DU 90%. Namun, belum banyak penelitian tentang EPO yang lebih terfokus pada pasien PRB dan meninjau biaya obat serta kesesuaiannya dengan Fornas. Oleh karena itu, EPO menjadi penting untuk dilakukan di era JKN. Kegiatan EPO tidak hanya dapat digunakan di apotek, tetapi juga di tingkat daerah atau nasional, sebagai gambaran serta masukan dalam perencanaan kebutuhan obat pasien PRB, sehingga pemenuhan obat PRB berjalan secara efektif dan efisien.

2. Metode

2.1 Rancangan penelitian

Penelitian menggunakan metode observasional dengan desain *cross sectional* dan mengumpulkan data secara retrospektif. Data retrospektif merupakan data sekunder yang diperoleh dari apotek yang bekerjasama dengan BPJS Kesehatan dari dokumen tindak lanjut terkait penggunaan obat antihipertensi meliputi apotek A, B, dan C pada tahun 2020 berupa resep yang masuk ke apotek. Data dianalisis menggunakan *Anatomical Therapeutic Chemical* (ATC)/*Defined Daily Dose* (DDD), *Drug Use 90%* (DU90%) dan biaya penggunaan antihipertensi pada apotek PRB di Kabupaten Kudus.

2.2 Populasi, sampel, dan teknik pengambilan sampel

Subyek penelitian ini adalah data resep pasien hipertensi yang melakukan kunjungan di apotek PRB Kabupaten Kudus pada periode bulan Januari-Desember 2020. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah pasien berusia >18 tahun, pasien yang terdiagnosa hipertensi, resep PRB yang masuk ke apotek (terdiri dari nama obat, jumlah obat, dosis obat, bentuk sediaan obat, indikasi, harga obat, dan data biaya pengeluaran periode 2020), pasien yang mendapatkan terapi hipertensi, dan pasien dengan komplikasi atau tanpa komplikasi. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah pasien hipertensi yang memiliki catatan resep yang tidak lengkap. Besaran sampel pada penelitian ini diperoleh dengan menggunakan rumus Slovin:

$$n = \frac{N}{1 + N (d^2)}$$

Keterangan :

N = besar populasi; n= besar sampel; d= tingkat kepercayaan /ketepatan yang diinginkan (0,05)

Perhitungan jumlah sampel untuk masing-masing apotek dideskripsikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Perhitungan jumlah sampel per apotek

Apotek	N	d	n sampel	
			Tahun	Bulan
A	3798	0,05	361	30
B	2641	0,05	347	29*
C	2085	0,05	335	28

*pembulatan keatas

Total keseluruhan sampel yang diambil selama tahun 2020 adalah 1.044 sampel, dan rata-rata sampel tiap bulan yang diambil secara berturut-turut untuk apotek A, B, dan C adalah 30, 29, dan 28 sampel tiap bulan selama 1 tahun.

2.3 Pengambilan data

Data pada penelitian ini diperoleh dari dokumen penggunaan obat antihipertensi berupa resep pasien hipertensi yang terlebih dulu dipisahkan dari resep pasien diagnosa lain. Data resep yang memenuhi kriteria inklusi dicatat, meliputi nama obat, jumlah obat, dosis obat, bentuk sediaan obat indikasi, harga obat, dan data biaya pengeluaran periode 2020. Adapun biaya obat antihipertensi harga obat dilihat melalui klaim dari BPJS Kesehatan.

2.4 Analisis data

Analisa data dilakukan menggunakan metode ATC/DDD yang diintegrasikan dengan DU 90% berdasarkan panduan WHO *Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology* (https://www.whocc.no/atc_ddd_index/). Data disajikan dalam bentuk tabel meliputi data kuantitas penggunaan obat antihipertensi dan pola konsumsi obat serta nilai DDD/1.000 *patient days*. Adapun langkah dalam perhitungan konsumsi obat dengan unit DDD yaitu mencari kode ATC pada setiap obat berdasarkan ATC/DDD *index* (WHO, 2021). Perhitungan nilai DDD serta DDD/1.000 pasien untuk data konsumsi obat rawat jalan atau komunitas dilakukan menggunakan rumus:

$$\text{Penggunaan obat dalam DDD} = \frac{\text{Kuantitas penggunaan} \times \text{kekuatan}}{\text{DDD}}$$

$$\text{Penggunaan obat dalam DDD} = \frac{\text{Total DDD}}{\text{Total pasien}} \times 1000$$

Hasil perhitungan selanjutnya dilakukan pengurutan nilai DDD/1.000 pasien dari nilai terbesar hingga terkecil dan menghitung konsumsi obat yang masuk segmen DU 90% dan 10%. Untuk menganalisis kesesuaian peresepan obat antihipertensi pada pasien PRB dilakukan dengan melihat persentase kesesuaian obat berdasarkan Fornas PRB tahun 2020. Pengukuran biaya diperoleh dengan cara mengalikan jumlah masing-masing obat dengan biaya pembelian kemudian dihitung total biaya berdasarkan masing-masing obatnya.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik subyek penelitian pada pasien PRB hipertensi berdasarkan jenis kelamin serta umur bertujuan untuk melihat perbandingan persentase jumlah peresepan pada pasien hipertensi di apotek PRB wilayah Kudus. Umur dan jenis kelamin merupakan faktor resiko terjadinya hipertensi (Hasan, 2018). Menurut *American Society of Hypertension* (ASH) tahun 2008, beberapa faktor penyebab terjadinya hipertensi diantaranya diet, obesitas, merokok, penyakit Diabetes Mellitus (DM), umur, ras, jenis kelamin, dan genetik. Karakteristik subyek penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik pasien

Karakteristik	Jumlah resep (N)	Persentase (%)
Jenis kelamin		
Pria	434	41,57
Wanita	610	58,43
Usia (tahun)		
<40	54	5,17
40-60	532	50,96
>60	458	43,87
Total pasien	1044	100

Tabel 1 menunjukkan bahwa peresepan pada pasien hipertensi lebih dominan jenis kelamin perempuan sebesar 58,43 % dibandingkan dengan laki-laki sebanyak 41,57%. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, yaitu penderita hipertensi sebagian besar merupakan jenis kelamin perempuan dengan persentase sebesar 65,85% (Hapsari & Agusta, 2017). Penelitian sebelumnya oleh Ratnasari *et al.* (2017) menunjukkan bahwa prevalensi hipertensi tertinggi pada wanita adalah 8.642 pasien atau sebesar 59,77%. Prevalensi hipertensi pada wanita dan pria umumnya sama, tetapi wanita dapat mencegah penyakit kardiovaskular sebelum menopause. Risiko terkena tekanan darah tinggi meningkat seiring bertambahnya usia. Tingginya angka kejadian tekanan darah tinggi pada wanita sering terjadi setelah menopause karena produksi estrogen endogen berhenti, sehingga tubuh tidak dapat mempertahankan vasodilatasi, yang dapat mengontrol tekanan darah (Gudmundsdottir *et al.*, 2012).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peresepan pada pasien hipertensi tertinggi terjadi pada kelompok usia 40-60 tahun sebanyak (50,96%), hal ini disebabkan terjadinya penurunan fungsi tubuh, serta bertambahnya usia, sehingga tekanan darah juga akan meningkat. Hasil penelitian sejalan dengan penelitian Ratnasari *et al.* (2017) usia pasien hipertensi dengan jumlah tertinggi adalah usia 51-75 tahun sebanyak 10.015 pasien (69,62%). Tingginya jumlah pasien pada rentang

40-60 tahun dikarenakan adanya perubahan struktural dan fungsional pada pembuluh darah perifer yang bertanggung jawab atas perubahan tekanan darah pada pada usia lanjut, hal ini sesuai dengan perubahan fisiologi dan penurunan fungsi organ tubuh. Data hasil karakteristik subyek pada penelitian ini belum menunjukkan jumlah persentase pada sampel berdasarkan jenis kelamin dan usia (Louisa *et al.*, 2018). Data penelitian ini hanya berfokus pada perhitungan jumlah konsumsi obat antihipertensi serta jumlah macam item obat pada pasien PRB. Hasil ini merupakan gambaran secara umum pola persepan pasien yang melakukan kunjungan di apotek PRB wilayah Kudus selama priode Januari-Desember 2020.

3.2 Evaluasi kuantitas penggunaan dan profil DU 90% obat antihipertensi

Salah satu cara untuk mengevaluasi penggunaan obat secara kuantitatif adalah dengan menggunakan metode *Anatomical Therapeutik Chemical (ATC) / Defined Daily Dode (DDD)* dan *Drug Utilization (DU 90%)*. Dengan menggunakan metode ini, dimungkinkan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dari penggunaan obat di apotek yang sama untuk menentukan apakah penggunaan suatu obat/kelompok obat berlebihan, sedang atau kurang (Lewandowski *et al.*, 2015). Evaluasi penggunaan obat antihipertensi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Analisis penggunaan obat antihipertensi di 3 (tiga) apotek PRB wilayah Kudus

Nama apotek	Kode ATC	Nama obat yang di resepkan & Kekuatan	DDD/ 1000 hari rawat jalan	Persentase%	Kumulatif	DU 90%
Apotek A	C08CA01	Amlodipin 5mg	31,500	44,61	44,61	
		Amlodipin 10mg				
	C09CA06	Candesartan 8mg	24,417	34,58	79,18	
		Candesartan 16mg				
C09AA05	Ramipril 2,5mg	4,750	6,73	85,91	90%	
	Ramipril 5mg					
	Ramipril 10mg					
C09AA16	Hidroklorotiazid 25mg	3,542	5,02	90,92		
Apotek B	C08CA01	Amlodipin 5mg	44,018	51,83	51,13	
		Amlodipin 10mg				
	C09CA06	Candesartan 8mg	15,714	18,50	69,38	
		Candesartan 16mg				
C09AA16	Hidroklorotiazid 25mg	8,482	9,99	79,23	90%	
C09AA05	Ramipril 10mg	7,500	8,83	87,94		
Apotek C	C08CA01	Amlodipin 5mg	27,414	49,98	49,98	90%
		Amlodipin 10mg				
	C09CA06	Candesartan 8mg	11,897	21,69	71,67	

Nama apotek	Kode ATC	Nama obat yang di resepkan & Kekuatan	DDD/ 1000 hari rawat jalan	Persentase%	Kumulatif	DU 90%
		Candesartan 16mg				
	C09AA05	Ramipril 2,5mg Ramipril 5mg	7,241	13,20	84,87	
	C09AA03	Lisinopril 5mg Lisinopril 10mg	2,414	4,40	89,27	

Tabel 3 menunjukkan penggunaan obat antihipertensi dari ketiga apotek yang paling banyak digunakan adalah amlodipin, candesartan, ramipril, hidroklorotiazid dan lisinopril, Obat antihipertensi yang masuk segmen DU 90% dari ketiga apotek yang paling tinggi adalah amlodipin, candesartan, ramipril, hidroklorotiazid dan lisinopril. Hal ini sesuai dengan penelitian Prihayati & Pujiyanto (2019) penggunaan obat antihipertensi yang paling banyak digunakan dengan metode DDD/1000 *patient-days* adalah amlodipin 321,966; candesartan 113,082; dan ramipril 91,045 DDD/1000 *patient-days*. Berdasarkan perhitungan DDD/1000 *patient-days* amlodipin merupakan golongan CCB. Obat yang paling sering digunakan untuk pasien hipertensi pada apotek A, B, dan C pada tahun 2020, antagonis kalsium bekerja dengan menghambat masuknya ion kalsium ke dalam sel otot polos pembuluh darah dan otot jantung melalui penghambatan kanal ion kalsium sehingga terjadinya relaksasi (Syamsudin, 2011).

Golongan ACEI yang digunakan apotek A, B, dan C adalah ramipril dan lisinopril. Obat antihipertensi yang digunakan dari ketiga apotek sebagai monoterapi dalam penelitian ini adalah golongan CCB. Salah satu obat CCB yang paling banyak digunakan adalah amlodipin, yang digunakan sebagai monoterapi atau dalam kombinasi dengan kelas obat lain (seperti diuretik, ACEI, ARB, atau *beta blocker*). Regimen terapi yang digunakan di apotek A, B, dan C telah sesuai dengan JNC VIII. Amlodipin merupakan golongan CCB sebagai salah satu obat antihipertensi tingkat pertama yang direkomendasikan oleh JNC VIII. Amlodipin bekerja dengan merelaksasi dinding pembuluh darah dan memperbesar diameter pembuluh darah. Efek ini akan mempercepat aliran darah ke jantung dan menurunkan tekanan darah di pembuluh darah. Amlodipin juga dapat memblokir kadar kalsium yang masuk ke sel otot polos dinding pembuluh jantung (Ardhany *et al.*, 2018). Terlebih, amlodipin juga merupakan obat yang sangat berguna untuk pengobatan hipertensi darurat, karena dosis awal adalah 10mg yang dapat menurunkan tekanan darah dalam 10 menit (Gunawan *et al.*, 2008).

3.3 Biaya obat antihipertensi

Biaya obat pada pasien PRB ditagihkan melalui klaim kepada BPJS Kesehatan. Jumlah besarnya biaya obat di apotek PRB sama yaitu sesuai harga di e-katalog BPJS Kesehatan serta ditambahkan

margin apotek dan faktor pelayanan kefarmasian (Kemenkes RI, 2017). Analisis biaya obat antihipertensi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Analisis biaya obat antihipertensi di 3 (tiga) Apotek PRB wilayah Kudus

Nama apotek	Nama obat yang di resepkan	Jumlah obat	Harga obat (Rp)	Total biaya (Rp)
Apotek A	Candesartan 16mg	121	36.211	4.381.531
	Adalat® oros 30mg	15	151.603	2.274.045
	Candesartan 8mg	51	20.928	1.067.328
	Amlodipin 10mg	149	3.802	566.498
	Concor® 2,5mg	12	24.038	288.456
	Ramipril 10mg	9	27.034	243.306
	Amlodipin 5mg	80	2.880	230.400
	Bisoprolol 2,5mg	9	24.038	216.342
	Hidroklorotiazid 25mg	17	5.952	101.184
Lisinopril 10mg	10	9.946	99.460	
Apotek B	Candesartan 16mg	55	36.211	1.991.605
	Candesartan 8mg	66	20.928	1.381.248
	Amlodipin 10mg	194	3.802	737.588
	Ramipril 10mg	20	27.034	540.680
	Bisoprolol 5mg	48	9.677	464.496
	Amlodipin 5mg	105	2.880	302.400
	Hidroklorotiazid 25mg	38	5.952	226.176
	Lisinopril 10mg	20	9.946	198.920
	Concor® 2,5mg	8	24.038	192.304
Adalat Oros 30mg	1	151.603	151.603	
Apotek C	Candesartan 16mg	47	36.211	1.701.917
	Adalat Oros 30mg	8	151.603	1.212.824
	Candesartan 8mg	44	20.928	920.832
	Bisoprolol 5mg	49	9.677	474.173
	Amlodipin 10mg	105	3.802	399.210
	Ramipril 5mg	34	9.408	319.872
	Amlodipin 5mg	108	2.880	311.040
	Lisinopril 10mg	21	9.946	208.866
	Ramipril 2,5mg	16	11.328	181.248
Hidroklorotiazid 25mg	12	5.952	71.424	

Perhitungan biaya ditujukan untuk mengetahui dampak ekonomi dari resep sekaligus mengukur efektivitas biaya dari berbagai intervensi terapeutik. Adanya perbandingan obat yang digunakan di lokasi yang berbeda sangat membantu dalam memahami bahwa ada perbedaan signifikan sebagai panduan evaluasi lebih lanjut yang pada akhirnya akan mengarah pada identifikasi

masalah dan peningkatan sistem penggunaan. Tabel 4 menunjukkan biaya penggunaan obat candesartan tertinggi karena penggunaan obatnya yang tergolong banyak. Berdasar aspek harga obat, biaya untuk pemakaian 30 hari obat candesartan senilai Rp36.211,00. Hal ini yang menyebabkan biaya penggunaan obat candesartan yang tertinggi pertama. Hasil penelitian ini sejalan dengan Prihayati & Pujiyanto (2019) yang mendeskripsikan bahwa biaya penggunaan obat tertinggi adalah candesartan (19%), irbesartan (18,59%) dan amlodipin (9,66%) dengan biaya pembelian terendah yaitu clonidine (0,32%). Lebih lanjut, penelitian Yusransyah *et al.* (2019) menyatakan bahwa biaya antihipertensi di segmen DU 90% tiap tahunnya berubah, seperti pada tahun 2014 hingga 2016 secara berurutan nilainya sebesar 17,9%, 80,1%, dan 24,8%. Dari hasil perhitungan tersebut, didapatkan hasil bahwa captopril 25 mg secara nyata masuk dalam segmen 90% setiap tahun. Obat lain dengan frekuensi tertinggi adalah amlodipin 5 mg, amlodipin 10 mg, furosemid 40 mg dan hidroklorotiazid. Biaya penggunaan obat Adalat®oros tertinggi kedua di apotek A dikarenakan harga obat yang tergolong mahal sebanyak Rp151.603,00 untuk pemakaian 30 hari, meskipun jumlah obat yang digunakan tergolong sedikit. Hal ini disebabkan karena perbedaan harga yang tergolong jauh untuk obat paten dan generik.

Biaya penggunaan obat antihipertensi dari ketiga apotek menunjukkan peresepan atau pemberian obat dengan nama dagang, meskipun pada kenyataannya tersedia obat generik yang lebih murah dan sama efektivitasnya. Sebagai contoh penggunaan obat paten yaitu Concor® dengan kandungan zat aktif bisoprolol, yang memiliki kandungan kimia dan manfaat yang sama dalam bentuk generiknya. Pada Tabel 4 harga obat bisoprolol dan Concor® sangat jauh berbeda, yaitu penggunaan 30 hari untuk obat bisoprolol untuk 30 sebesar Rp9.677,00 sedangkan obat Concor® senilai Rp24.038,00. Adapun nama obat yang terdaftar di Fornas adalah bisoprolol, sehingga harga yang akan diklaim oleh BPJS Kesehatan merupakan harga bisoprolol. Oleh karenanya, adanya selisih harga tersebut mengakibatkan kerugian bagi apotek.

Terkait ketersediaan stok obat, setiap apotek mempunyai cara sendiri dalam mengatasi kekosongan obat PRB, misalnya dengan mengisi stok obat umum kepada pasien PRB. Dengan cara ini pendapatan apotek masih lebih besar dibandingkan bila harus mengalihkan seluruh obat dalam resep tersebut ke apotek PRB kedua. Oleh karenanya, BPJS Kesehatan perlu untuk duduk bersama dengan pengelola apotek dan jajaran Dinas Kesehatan dalam membuat daftar *mapping* apotek yang memenuhi kualifikasi BPJS. Hal ini juga menjadikan koordinasi dan komunikasi terjalin lebih baik dalam mendukung PRB.

3.4 Kesesuaian obat antihipertensi dengan Fornas

Formularium nasional untuk obat PRB adalah daftar kebutuhan obat pilihan yang harus tersedia di fasilitas kesehatan sebagai bagian dari pelaksanaan JKN. Penggunaan Fornas menjadi acuan bagi fasilitas pelayanan kesehatan untuk memastikan standar peresepan yang bermutu dan hemat biaya untuk mencapai penggunaan obat yang rasional dan terjangkau dalam sistem JKN. Kesesuaian penggunaan obat antihipertensi dengan Fornas PRB dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kesesuaian penggunaan obat antihipertensi dengan formularium nasional PRB di 3 (tiga) apotek PRB Kabupaten Kudus

Nama Apotek	Jumlah Obat	Kriteria	Jumlah obat yang sesuai	Persentase (%)
A	23	Sesuai	17	73,91
		Tidak sesuai	6	26,09
B	21	Sesuai	16	80,00
		Tidak sesuai	4	20,00
C	19	Sesuai	13	68,42
		Tidak sesuai	6	31,58

Keterangan:

Sesuai : Penulisan resep obat sesuai dengan pedoman formularium nasional obat PRB

Tidak sesuai : Penulisan resep obat diluar pedoman formularium nasional obat PRB

Tabel 5 menunjukkan bahwa persentase kepatuhan minum obat antihipertensi dalam daftar obat Fornas di apotek A, B dan C belum mencapai 100%. Hal ini disebabkan karena beberapa obat yang diresepkan tidak termasuk dalam daftar obat Fornas, seperti pada penelitian ini obat yang tidak terdaftar dan sering diresepkan yaitu Concor® dan Adalat®oros. Adanya penulisan resep di luar Fornas dapat menyebabkan biaya obat di luar tanggung jawab BPJS Kesehatan, sehingga pasien harus mengeluarkan biaya tambahan untuk obat yang diresepkan. Hal ini tentunya dapat membebani pasien yang sebelumnya telah membayar iuran tiap bulan kepada BPJS Kesehatan. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Putri (2022) menunjukkan jumlah persentase kesesuaian peresepan obat antihipertensi dengan Fornas dengan parameter nama generik (98,8%) dan (1,2%) item obat yang tidak sesuai dengan Fornas. Faktor yang mempengaruhi penulisan resep tidak mengacu pada Fornas adalah adanya faktor internal seperti kebutuhan terapi obat yang belum masuk dalam formularium karena kurangnya sosialisasi untuk semua dokter atau informasi yang kurang terkait obat-obat yang masuk dalam Fornas, sedangkan pada faktor eksternal karena adanya keterkaitan dengan pihak lain agar meresepkan obat tertentu (Nasyanka *et al.*, 2020).

3.5 Perbedaan penggunaan obat dan biaya obat antihipertensi

Membandingkan pola penggunaan obat dan biaya obat di 3 (tiga) apotek PRB wilayah kudu untuk mengetahui penggunaan obat apa saja yang paling banyak digunakan dan biaya tertinggi dari 3 (tiga) apotek yang dapat dilihat pada Tabel 6. Ketiga apotek menunjukkan bahwa pemenuhan obat

antihipertensi terdapat perbedaan dari segi penggunaan obat, dimana pada apotek A dan apotek B tidak terdapat Lisinopril karna lisonopril tidak masuk pada segmen DU 90% sedangkan pada apotek C tidak menggunakan hidroklorotiazid karna tidak masuk pada segmen DU 90%. Obat yang paling banyak diresepkan dokter untuk pasien PRB BPJS Kesehatan yaitu amlodipin.

Tabel 6. Perbedaan obat antihipertensi di 3 (tiga) apotek PRB Kabupaten Kudus

Nama Apotek	Nama obat yang di resepkan	%	DU 90%	Total Biaya (Rp)
A	Amlodipin	44,61	90%	804.502
	Candesartan	34,58		5.448.859
	Ramipril	6,73		361.962
	Hidroklorotiazid	5,02		101.184
B	Amlodipin	51,13	90%	1.039.988
	Candesartan	18,25		3.372.853
	Hidroklorotiazid	9,85		226.176
	Ramipril	8,71		559.496
C	Amlodipin	49,98	90%	710.250
	Candesartan	21,69		2.622.749
	Ramipril	13,20		501.120
	Lisinopril	4,40		327.138

Penggunaan obat yang sama disebabkan karena penulisan resep obat mengacu dengan formularium nasional sedangkan obat-obat yang tertera di Fornas hanya beberapa jenis obat saja contohnya golongan CCB yang tercantum hanya 2 jenis obat yaitu amlodipin dan nifedipin. Hal ini yang menyebabkan profil penggunaan obat untuk ketiga apotek sama. Biaya penggunaan obat antihipertensi dari ketiga apotek menunjukkan perbedaan dari segi biaya obat yang masuk pada segmen DU 90% dimana biaya obat tertinggi di apotek A yaitu candesartan (Rp5.448.859,00) dan kedua amlodipin (Rp804.502,00). Biaya penggunaan obat candesartan tertinggi karena penggunaan obat candesartan yang tergolong banyak dan masuk dalam segmen DU 90%. Berdasarkan aspek harga obat untuk pemakaian 30 hari, obat candesartan tergolong cukup mahal sebesar Rp36.211,00 dibandingkan dengan harga amlodipin 10 mg sebanyak Rp3.802,00. Adanya selisih harga yang cukup jauh menyebabkan biaya penggunaan obat candesartan menjadi yang tertinggi pertama.

Menurut Kusumawardhani & Ripha (2020), faktor biaya apotek yang mempengaruhi biaya PRB yaitu harga obat Fornas terlalu rendah, sulitnya mencari distributor obat sesuai dengan *harga e-catalogue*, penurunan batas pendapatan untuk menjamin ketersediaan obat, obat lambat dikeluarkan oleh LKPP dan obat di LKPP tidak terdapat stok barang di PBF yang ditunjuk, dan sering terjadinya keterlambatan pembayaran tagihan BPJS Kesehatan. Selisih harga antara obat generik dan

obat originator (obat paten yang sudah habis masa patennya) terlihat pada situasi harga obat yang tinggi akibat banyaknya obat bermerek yang bermunculan.

4. Kesimpulan

Penggunaan obat di Apotek A, B, dan C berdasarkan klasifikasi *Anatomical Therapeutic Chemical* (ATC)/*Defined Daily Dose* (DDD) pada tahun 2020 yaitu amlodipin, candesartan, ramipril, hidroklorotiazid dan lisinopril. Pada segmen DU90%, penggunaan obat yang tertinggi adalah amlodipin, sedangkan biaya penggunaan obat tertinggi yaitu candesartan 16 mg sebesar Rp4.381.531,00. Kesesuaian persepan dengan Fornas belum mencapai 100%.

Ucapan terimakasih

Segenap pihak apotek di Kabupaten Kudus yang telah memberikan izin melaksanakan penelitian dan membantu peneliti selama proses penelitian.

Daftar pustaka

- Adolof, L. N. D., Winda, L. N., & Melia, T. R. M. (2019). Evaluasi Penggunaan Obat Antihipertensi pada Pasien Rawat Inap di RSUD Lerik Kupang Tahun 2018 dengan Metode ATC/ DDD dan DU 90%. *CHMK: Pharmaceutical Scientific Journal*, 2(2).
- Ardhany, S. D., Pandaran, W., & Pratama, M. R. F. (2018). Profil Penggunaan Obat Antihipertensi Di Rsud Mas Amsyar Kasongan Kabupaten Katingan (A Profile of Antihypertensive Medicines in Mas Amsyar Hospital Kasongan Katingan Regency). *Borneo Journal of Pharmacy*, 1(1), 47-50.
- BPJS Kesehatan. (2014). Panduan Praktis Program Rujuk Balik Bagi Peserta Jaminan Kesehatan Nasional. *Badan Penyelenggara Jaminan Sosial Kesehatan*.
- Dinas Kesehatan. (2019). Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah Tahun 2019. *Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah*.
- Gudmundsdottir, H., Høiegggen, A., Stenehjem, A., Waldum, B., & Os, I. (2012). Hypertension in Women: Latest Findings and Clinical Implications. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 3(3), 137-146. doi:<https://doi.org/10.1177/2040622312438935>
- Gunawan, S. G., Setiabudy, R., & Nafrialdi, E. (2008). *Farmakologi dan Terapi edisi 5*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI.
- Hapsari, W. S., & Agusta, H. F. (2017). Pola Penggunaan Obat Antihipertensi Pada Pasien Hipertensi Rawat Jalan Bpjs Di Rsud Krt Setjonegoro Wonosobo. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 3(2), 24-28. doi:<https://doi.org/10.31603/pharmacy.v3i2.1728>
- Hasan, A. (2018). Korelasi umur dan jenis kelamin dengan penyakit hipertensi di emergency center unit rumah sakit islam siti khadijah palembang 2017. *Indonesia Jurnal Perawat*, 3(1), 9-16.
- Kemendes RI. (2017). Standar Tarif Pelayanan Kesehatan dalam Penyelenggaraan Program Jaminan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Retrieved from <https://peraturan,bpk.go.id/Home/Details/114070/permenkesno-52-tahun-2016>
- Kusumawardhani, O. B., & Ripha, R. W. (2020). *Systematic Review: Kendali Mutu Dan Biaya Program Rujuk Balik (PRB) BPJS Kesehatan*. Paper presented at the Prosiding University Research Colloquium.
- Lewandowski, C., Co-investigator, N., & Lewandowski, C. (2015). World Health Organization. Guidelines for ATC Classification and DDD Assignment 2016. *The Effects of Briefmind Fulness*

- Intervention Onacutepain Experience: An Examination of Individual Difference.*
doi:<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Nasyanka, A. L., Maesaroh, D., & Arizka, H. E. (2020). Profil Kesesuaian Penulisan Resep Pada Pasien Umum Eawat Inap Dengan Formularium Di Rumah Sakit Bedah Mitra Sehat Lamongan. *Journal of Herbal, Clinical Pharmaceutical Science*, 1(02), 24-28. doi:<http://dx.doi.org/10.30587/herclips.v1i02.1414>
- Prihayati, A., & Pujiyanto, P. (2019). *Drug Utilization Pattern and Cost Estimates of Anti-Hypertensive Drugs in Pharmacies under the National Health Insurance Program*. Paper presented at the 6th International Conference on Public Health 2019, Surakarta.
- Putri, A. N. N. (2022). *Kesesuaian Peresepan Obat Antihipertensi Dengan Fornas Periode Juni 2021–November 2021 Di Poli Penyakit Jantung Rumah Sakit Islam Jemursari Surabaya*. Diploma thesis, Akademi Farmasi Surabaya: Surabaya.
- Ratnasari, D., Mediastini, F. E., & Diah, K. I. (2017). Pola Peresepan Obat Antihipertensi Pasien BPJS yang Diresepkan Dokter Keluarga di Apotek Kabupaten Kendal Periode Januari-Desember 2016. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 1(1), 49-58. doi:<https://doi.org/10.31596/cjp.v1i1.7>
- Sembada, S. D., Kuswinarti, K., & Arisanti, N. (2016). Jumlah Pemenuhan dan Pola Penggunaan Obat Program Rujuk Balik di Apotek Wilayah Gedebage Kota Bandung. *Jurnal Sistem Kesehatan*, 2(1). doi:<https://doi.org/10.24198/jsk.v2i1.10410>
- Syamsudin, S. (2011). *Farmakoterapi Kardiovaskuler dan Renal*. Jakarta: Salemba Medika.
- Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., Khan, N. A., Poulter, N. R., Prabhakaran, D., Ramirez, A., Schlaich, M., Stergiou, G. S., & Tomaszewski, M. (2020). 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension*, 75(6), 1334-1357. doi:<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>
- WHO. (2021). Guidelines For ATC Classification And DDD Assignment. *In Norwegian Institute of Public Health*.
- Yusransyah, H., Halimah, E., & Suwantika, A. A. (2019). Utilization and Cost Minimization Study of Antihypertensive Drugs in Primary Healthcare Center. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*, 9(4), 83-88.



Anticancer activity of ethanol extract, n-hexane, and the ethyl acetate fraction of tin leaves (*Ficus carica* L.) on MCF-7 breast cancer cell lines

Aktivitas antikanker ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan etil asetat daun tin (*Ficus carica* L.) pada sel kanker payudara MCF-7

Aji Winanta*, Widhi Yana Sari

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

*Corresponding author: ajiwinnanta@umy.ac.id

Abstract

Background: Breast cancer is ranked as the second-highest cause of death in Indonesia. Many of the available cancer treatments result in severe adverse effects for patients. Tin (*Ficus carica* L.) leaves contain ingredients that can function as anticancer agents.

Objective: The study aims to identify phytochemical secondary metabolites in tin leaves and the cytotoxic activity of the extract and tin leaf fraction on MCF-7 cells.

Method: Tin leaf powder was macerated with 70% ethanol for 7 days. The extracts were fractionated using n-hexane and ethyl acetate. An identification test with ethanol extract was then carried out using spray reagents. The cytotoxic activity of ethanolic extract, n-hexane and ethyl acetate fraction of tin leaf was determined using the MTT method.

Result: The results of the identification with TLC found that the ethanol extract of tin leaves contains flavonoids and steroids. The ethyl acetate fraction of tin leaf was thought to have weak cytotoxic properties with an IC₅₀ value of 274.5877 µg / mL while the ethanol extract and n-heksan fraction of tin leaf do not have cytotoxic properties because they have an IC₅₀ value of 562.827 and 576.3552 µg / mL.

Conclusion: Based on the results, tin leaves have the potency to be developed as a chemopreventive agent for MCF-7 breast cancer cells.

Keywords: Breast Cancer, MCF-7 cells, tin leaf (*Ficus carica*), cytotoxic activity

Intisari

Latar belakang: Kanker payudara menduduki peringkat kedua penyebab kematian tertinggi di Indonesia. Dari beberapa pilihan pengobatan kanker yang tersedia, sering kali menimbulkan efek samping yang berat bagi pasien sehingga penemuan agen kemopreventif yang alami dan aman masih terus berlangsung hingga sekarang. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi sebagai agen kemopreventif yaitu tanaman tin (*Ficus carica* L.) memiliki kandungan yang dapat berfungsi sebagai antikanker.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun tin dan efek sitotoksiknya terhadap sel MCF-7.

Metode: Serbuk daun tin dimaserasi dengan alkohol 70% selama 7 hari. Dari hasil ekstrak yang didapat kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan n-heksan dan etil asetat. Uji identifikasi senyawa flavonoid dan steroid dari ekstrak etanol dilakukan dengan menggunakan pereaksi Liebermen-Burchard dan uap amoniak serta uji sitotoksik dengan menggunakan metode MTT terhadap sel MCF-7.

Hasil: Hasil identifikasi dengan KLT didapatkan bahwa ekstrak etanol daun tin mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan steroid. Fraksi etil asetat daun tin memiliki efek sitotoksik yang cukup toksik dengan nilai IC₅₀ sebesar 274,58 µg/mL sedangkan ekstrak etanol dan fraksi n-heksan daun tin tidak memiliki efek sitotoksik karena memiliki nilai IC₅₀ sebesar 562,82 dan 576,35 µg/mL.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil penelitian fraksi etil asetat daun tin memiliki potensi untuk diteliti lebih lanjut dalam upaya pengembangan sebagai agen kemopreventif terhadap sel kanker payudara MCF-7.

Kata kunci: Kanker payudara, sel MCF-7, daun tin (*Ficus carica*), aktivitas sitotoksik

1. Pendahuluan

Jumlah penderita kanker meningkat secara signifikan baik di Indonesia maupun di seluruh dunia. Kanker payudara berada di peringkat pertama kasus kanker baru dan penyebab kematian akibat kanker kedua di Indonesia. Berdasarkan data proyek *Global Cancer Statistic* (GLOBOCAN) dari *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (Bray *et al.*, 2018), sebanyak 58 ribu kasus kanker payudara baru ditemukan di Indonesia dan 22 ribu jiwa diantaranya meninggal dunia. Upaya pengobatan kanker dapat dilakukan dengan berbagai macam seperti pembedahan, kemoterapi, radiasi, dan pemberian terapi hormonal (Nakano *et al.*, 2010). Namun metode ini tidak cukup efektif dalam pengobatan kanker dikarenakan sulitnya mendesain senyawa kemoterapi yang memiliki aktifitas antikanker tinggi namun rendah efek sampingnya pada sel normal (Gibbs, 2000).

Penemuan agen kemopreventif yang alami dan aman masih terus berlangsung hingga sekarang. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi sebagai agen kemopreventif yaitu tanaman tin (*Ficus carica* L). Bagian tanaman tin yang telah digunakan secara empiris sebagai antikanker dan antioksidan adalah daunnya. Kandungan fitokimia dari tanaman tin seperti flavonoid, terpenoid, polifenol, alkaloid, dan tanin (Joseph & Raj, 2010; Anisa *et al.*, 2018), merupakan senyawa penting yang diduga berperan sebagai senyawa antikanker. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antiproliferasi sel, menginduksi apoptosis dan antioksidan (Soni *et al.*, 2014), kandungan β -sitosterol dalam buah dan daun tin telah teruji secara *in vitro* dapat menghambat proliferasi berbagai sel kanker (Joseph & Raj, 2010).

Beberapa penelitian aktivitas antikanker dari tanaman tin telah dilakukan. Ekstrak etanol daun tin mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HeLa dengan nilai IC_{50} 150 μ g/mL (Refli, 2012). Penelitian Zubair *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari buah tin mampu menghambat proliferasi sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 9,8 μ g/mL. Berdasarkan hal tersebut peneliti ingin mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun tin (*Ficus carica* L), serta mengetahui aktivitas antikanker pada sel kanker MCF-7 secara *in vitro*.

2. Metode

2.1 Deskripsi bahan dan teknik pengumpulan sampel

Daun tin (*Ficus carica* L.) diperoleh dari Magelang, Jawa Tengah, diekstraksi dengan etanol 70% dan difraksinasi menggunakan pelarut etanol 96%, n-heksan dan etil asetat. Bahan yang digunakan untuk menguji kandungan kima yaitu silika gel GF-254, asam asetat, n-butanol (Merck), kloroform (Merck), metanol (Merck), amoniak, Lieberman Burchard. Sel kanker payudara MCF-7

diperoleh dari koleksi Laboratorium Kultur Sel Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY. Media, sel MCF-7 ditumbuhkan dalam media Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) yang mengandung Foetal Bovine Serum (FBS) 10% (v/v) (Glibco), penisilin-streptomisin 1% (v/v) (Glibco).

2.2 Jalannya penelitian

2.2.1 Ekstraksi dan fraksinasi

Sebanyak 500 gram serbuk kering daun tin dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:6 selama 5 hari, kemudian diremaserasi dengan perbandingan pelarut yang sama selama 2 hari. Ekstrak cair yang didapatkan kemudian dievaporasikan pada suhu 60°C dan dipanaskan diatas *waterbath* dengan suhu 70°C. Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan 10 gram ekstrak kasar dengan 50 mL pelarut air:etanol 2:3 hingga larut sempurna. Larutan kemudian difraksinasi dengan menggunakan n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Proses ini diulang sebanyak tiga kali (Tusanti *et al.*, 2014; Phang *et al.*, 2013).

2.2.2 Identifikasi senyawa menggunakan metode KLT

Pada penelitian ini digunakan fase diam berupa silika gel GF-254 nm sedangkan fase gerak digunakan sesuai dengan senyawa yang ingin diidentifikasi keberadaannya. Identifikasi senyawa yang dilakukan pada penelitian ini yaitu identifikasi flavonoid, dan steroid. Pada identifikasi flavonoid digunakan fase gerak berupa butanol:asam asetat:air (3:1:1). Identifikasi steroid digunakan fase gerak berupa kloroform:metanol (9:1). Bercak diamati dengan menggunakan sinar tampak, UV 256 nm dan UV 366 nm.

2.2.3 Uji sitotoksik dengan metode MTT

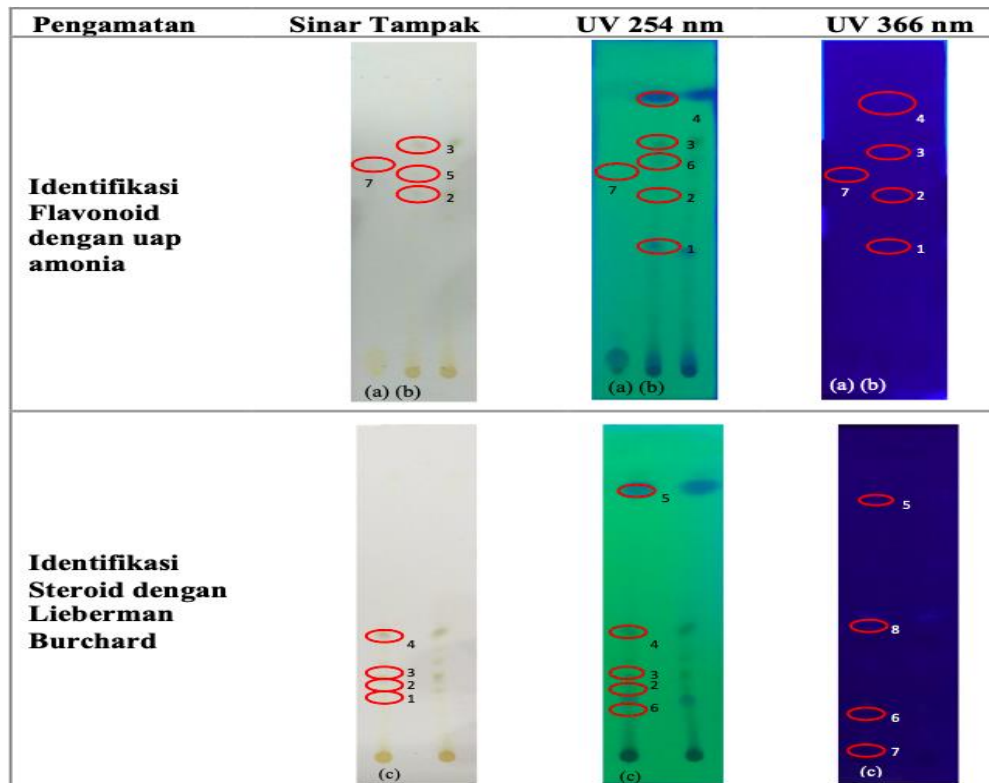
Sel dengan kepadatan 1×10^4 sel/sumuran didistribusikan ke dalam *plate* 96 sumuran dan diinkubasi selama 48 jam untuk beradaptasi dan menempel di dasar sumuran, kemudian media diambil, dicuci PBS dan ditambahkan 100 μ L media kultur yang mengandung DMSO 0,2% (kontrol), sampel uji dalam bentuk tunggal (ekstrak dan fraksi-fraksi daun tin) diinkubasi selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung sampel dibuang, dicuci dengan 100 μ L PBS. Kemudian ke dalam masing masing sumuran ditambahkan 100 μ L media kultur yang mengandung 5 mg/mL MTT, diinkubasi lagi selama 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu. Setelah 4 jam, media yang mengandung MTT dibuang, dicuci PBS kemudian ditambahkan larutan *stopper* SDS dalam HCl 0,1% 200 μ L untuk melarutkan

kristal formazan, dikocok di atas shaker selama 10 menit kemudian dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm. Aktivitas sitotoksik dihitung dengan melihat nilai % sel hidup dan nilai IC_{50} dihitung melalui persamaan regresi linier (Riss *et al.*, 2013; Febriansah *et al.*, 2014). Morfologi sel MCF-7 diamati dibawah mikroskop inverter dan memberikan gambaran sel yang awalnya berbentuk bulat (sel kanker MCF-7) menjadi tak beraturan (setelah pemberian perlakuan sampel). Rumus menghitung sel hidup:

$$\% \text{ Hidup} = \frac{\text{Absorbansi sel dengan perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol media sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

3. Hasil dan pembahasan

Berdasarkan hasil ekstraksi dari 500 g serbuk kering daun tin diperoleh nilai rendemen ekstrak etanol yaitu sebesar 84,85 g (16,7%). Sedangkan hasil rendemen fraksi etil asetat dan n-heksan daun tin diperoleh hasil masing-masing sebesar 41,4% dan 36,9%. Untuk memastikan apakah terdapat kandungan flavonoid dan steroid pada ekstrak dan fraksi daun tin maka dilakukan dengan uji KLT. Hasil uji KLT menunjukkan adanya bercak berwarna yang dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil KLT ekstrak etanol daun tin (a), pembanding rutin (b), dan (c) ekstrak etanol

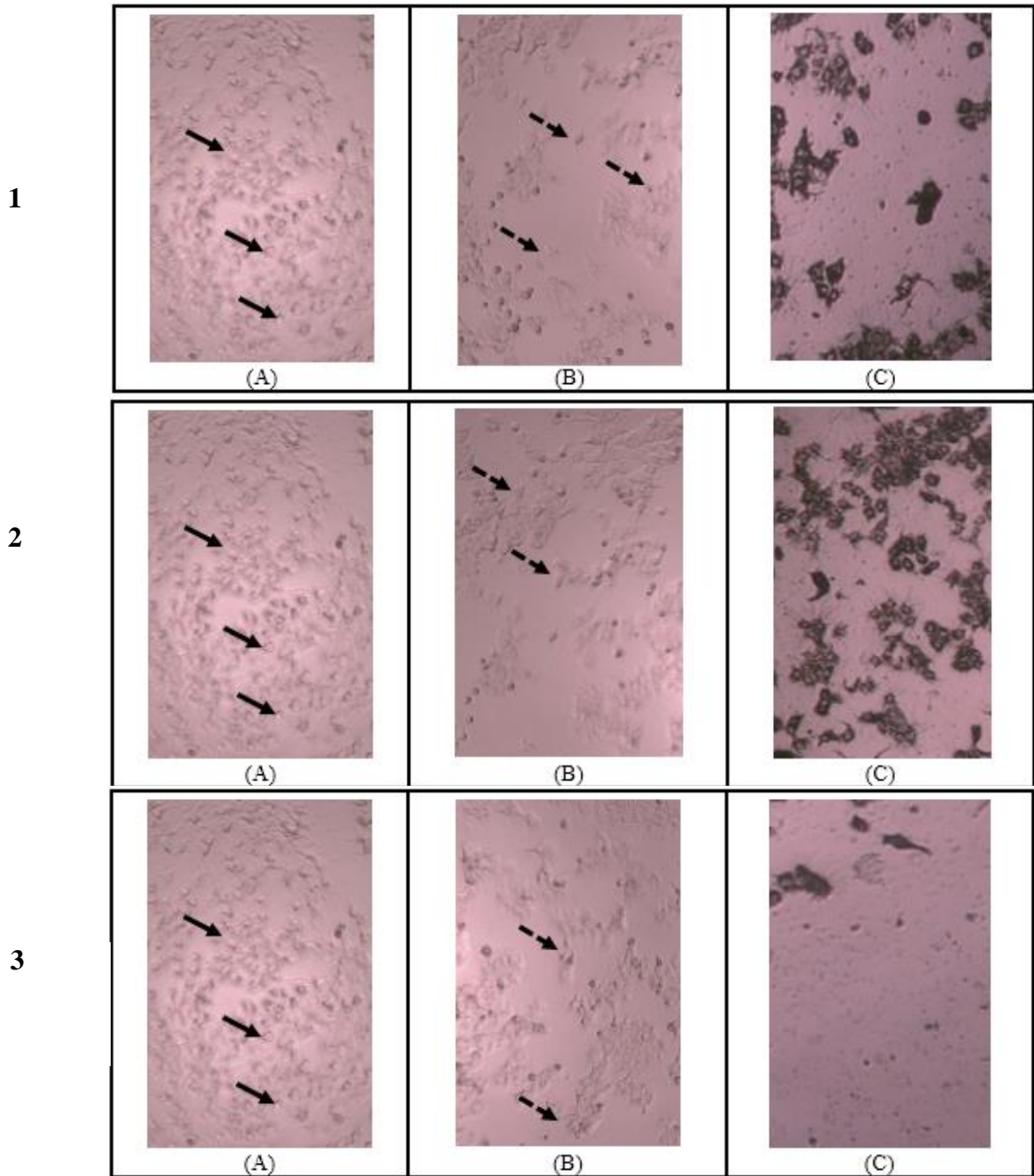
Berdasarkan hasil uji KLT diketahui bahwa ekstrak etanol daun tin mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan steroid (Gambar 1). Hal ini didasari oleh warna bercak yang berubah menjadi kecoklatan setelah diberi uap amonia juga dengan adanya bercak berwarna kuning kehijauan yang muncul pada pengamatan di bawah sinar tampak dan UV 254 nm, dan menunjukkan warna ungu pada pengamatan di bawah sinar UV 366 nm. Flavonoid merupakan salah satu dari senyawa fenol bersifat asam yang bila direaksikan dengan uap amonia yang berbentuk basa akan terbentuk warna yang disebabkan oleh terjadinya konjugasi dari senyawa aromatik (Markham, 1988).

Tabel 1. Aktivitas sitotoksik

Sampel	Persamaan Regresi Linier	IC ₅₀ (µg/mL)	Keterangan
Ekstrak etanol	$y = -0,02x + 60,654$ $R^2 = 0,9062$	532,7	Sitotoksik lemah
Fraksi etil asetat	$y = -0,0662x + 62,971$ $R^2 = 0,9835$	271,46	Cukup toksik
Fraksi N-Heksan	$y = -0,0414x + 73$ $R^2 = 0,9054$	555,46	Sitotoksik lemah

Pengujian MTT secara *in vitro* dengan sel kanker MCF-7 diperoleh hasil IC₅₀ dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun tin secara berturut-turut adalah 532,7; 271,46; 555,56 µg/mL (Tabel 1). Weerapreeyakul *et al.* (2012), menyatakan bahwa terdapat empat rentang kategori sitotoksitas yaitu sangat toksik jika memiliki nilai IC₅₀ <10 µg/mL, kategori toksis jika nilai IC₅₀ 10-100 µg/mL, kategori cukup toksik jika nilai IC₅₀ 101-500 µg/mL dan termasuk kategori tidak toksik apabila memiliki nilai IC₅₀ >500 µg/mL. Pada penelitian ini, ekstrak etanol dan fraksi n-heksan daun tin tidak memiliki efek sitotoksik karena memiliki nilai IC₅₀ >500 µg/mL sedangkan fraksi etil asetat cukup toksik karena memiliki nilai IC₅₀ pada rentang 101-500 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun tin merupakan fraksi yang memiliki efek sitotoksik paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi yang lain. Hasil ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Zubair *et al.* (2015), bahwa ekstrak etil asetat buah tin mempunyai aktivitas antiproliferatif yang kuat pada sel MCF-7 dengan nilai IC₅₀ 9,8 µg/mL dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan metanol. Aktivitas sitotoksik ini diduga karena tin mengandung senyawa steroid (6-*O*-acyl-*b*-D-glucosyl-*b*-sitosterols) yang merupakan hasil isolasi dari tanaman tin dan mempunyai aktivitas sitotoksik (Rubnov *et al.*, 2001). Penelitian lain juga mendukung bahwa senyawa flavonoid seperti kuersetin dan luteoilin terkandung di dalam ekstrak etanol daun tin (Vaya & Mahmood, 2006).

Selain nilai IC_{50} , pengamatan morfologi sel kanker sebelum dan sesudah perlakuan juga dilakukan dibawah mikroskop *inverted*. Perubahan morfologi sel dapat dilihat berdasarkan perubahan bentuk dari bulat menjadi tak beraturan setelah diberikan perlakuan.



Gambar 2. Morfologi sel MCF-7

Keterangan: 1) ekstrak etanol, 2) fraksi n-heksan, 3) fraksi etil asetat, (A) sebelum perlakuan, (B) sesudah perlakuan, (C) sesudah inkubasi dan penambahan reagen MTT

Adanya senyawa fenolik dan flavonoid dari daun tin yang mempunyai aktivitas antioksidan juga dapat berperan sebagai antikanker. Terdapat korelasi positif antara kandungan fenolik dan flavonoid total daun dan buah tin dengan IC_{50} dari aktivitas antioksidan (Wahyuni, 2014). Sifat antioksidan dalam senyawa fenolik juga dapat berperan sebagai antikanker. Pertumbuhan sel kanker dapat dihambat dengan adanya antioksidan karena memiliki kesamaan mekanisme hambatan di tingkat seluler. Senyawa antioksidan mampu menghambat oksidasi suatu molekul yang menghasilkan radikal bebas tertentu. Antioksidan akan mendonasikan atom hidrogen ke senyawa radikal sehingga menjadi bentuk tereduksi yang bersifat non radikal. Hal ini akan dapat mencegah terjadinya mutasi sel yang merupakan awal timbulnya kanker. Kerja kandungan flavonoid yang memiliki sifat sebagai antikanker meliputi inaktivasi karsinogenesis, inhibisi siklus sel, hambatan angiogenesis, proliferasi sel dan mekanisme apoptosis (Burhan *et al.*, 2019).

4. Kesimpulan

Ekstrak daun tin mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid dan steroid. Fraksi etil asetat daun tin (*Ficus carica* L.) memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7 yang cukup toksik dengan nilai IC_{50} sebesar 271,46 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan ekstrak etanol dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas lemah. Fraksi etil asetat daun tin mempunyai potensi untuk diteliti lebih lanjut terkait elusidasi senyawa aktif dan mekanisme sitotoksiknya pada sel MCF-7.

Ucapan terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada laboratorium sel kultur UMY yang telah menyediakan koleksi sel dan dukungannya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Penelitian ini didanai oleh Hibah Kemitraan LP3M UMY 2019 dari Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Daftar pustaka

- Anisa, K., Rahayu, T., & Hayati, A. (2018). Profil Metabolit Skunder Daun Tin (*Ficus carica*) melalui Analisis Histokimia dan Deteksi Flavonoid dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Sains Alami (Known Nature)*, 1(1), 104-110. doi:<https://doi.org/10.33474/j.sa.v1i1.1266>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global Cancer Statistics 2018 : Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394-424. doi:<https://doi.org/10.3322/caac.21492>

- Burhan, A., Aisyah, A. N., Awaludin, A., Zulham, Z., Tabe, B., & FGafur, A. (2019). Efek Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Batang Murbei (*Morus alba*. L.) terhadap Sel Kanker Widr secara in vitro. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(1), 17. doi:<https://doi.org/10.26874/kjif.v7i1.173>
- Febriansah, R., Dyaningtyas, D. P. P., Nurulita, N. A., Meiyanto, E., & Nugroho, A. E. (2014). Hesperidin as A Preventive Resistance Agent in MCF-7 Breast Cancer Cells Line Resistance to Doxorubicin. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(3), 228-233. doi:[https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60236-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60236-7)
- Gibbs, J. B. (2000). Mechanism-based Target Identification and Drug Discovery in Cancer Research. *Science*, 287(5460), 1969-1973. doi:<https://doi.org/10.1126/science.287.5460.1969>
- Joseph, B., & Raj, S. J. (2010). Phytopharmacological Properties of *Ficus Racemosa* Linn-An Overview. *International Journal of PharmTech Research*, 3(1), 8-12.
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Nakano, T., Ohno, T., Ishikawa, H., Suzuki, Y., & Takahashi, T. (2010). Current Advancement in Radiation Therapy for Uterine Cervical Cancer. *Journal of Radiation Research*, 51(1), 1-8. doi:<https://doi.org/10.1269/jrr.09132>
- Phang, C.-W., Malek, S. N. A., Ibrahim, H., & medicine., a. (2013). Antioxidant Potential, Cytotoxic Activity and Total Phenolic Content of *Alpinia Pahangensis* Rhizomes. *BMC complementary*, 13(243), 1-9. doi:<https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-243>
- Refli, R. J. S. B. I. P. B. (2012). Potensi ekstrak daun tin (*Ficus carica* L) sebagai antioksidan dan aktivitas hambatannya terhadap proliferasi sel kanker HeLa.
- Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., & Benink, H. A. (2013). Cell Viability Assay. In: Assay Guidance Manual, Sittampalam, G.S., N.P. Coussens and K. Brimacombe (Eds.). *Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences*, 357-363.
- Rubnov, S., Kashman, Y., Rabinowitz, R., Schlesinger, M., & Mechoulam, R. (2001). Suppressors of Cancer Cell Proliferation from Fig (*Ficus c Arica*) Resin: Isolation and Structure Elucidation. *Journal of Natural Products*, 64(7), 993-996. doi:<https://doi.org/10.1021/np000592z>
- Soni, N., Mehta, S., Satpathy, G., & Gupta, R. K. (2014). Estimation of Nutritional, Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial Activity of Dried Fig (*Ficus Carica*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2), 158-165.
- Tusanti, I., Johan, A., & Kisdjamiatun, R. (2014). Sitotoksisitas in Vitro Ekstrak Etanolik Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa*, Reinw.ex Bl.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal Gizi Indonesia*, 2(2), 53-58. doi: <https://doi.org/10.14710/jgi.2.2.53-58>
- Vaya, J., & Mahmood, S. (2006). Flavonoid Content in Leaf Extract of The Fig (*Ficus Carica* L), Carob (*Ceratonia Siliqua* L.) and Pistachio (*Pistacia Lentiscus* L.). *Biofactors*, 28(3-4), 169-175. doi:<https://doi.org/10.1002/biof.5520280303>
- Wahyuni, W. (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Fraksi Etanol dari Ekstrak Etanolik Daun Waru (Hibiscus tiliaceus L.) pada Sel Kanker Serviks HeLa*. Skripsi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta: Yogyakarta.
- Weerapreeyakul, N., Nonpunya, A., Barusrux, S., Thitimetharoch, T., & Sripanidkulchai, B. (2012). Evaluation of The Anticancer Potential of Six Herbs Against A Hepatoma Cell Line. *Chinese Medicine*, 7(15), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1186/1749-8546-7-15>
- Zubair, R., Abu Bakar, N. H., Swethadri, G., Baig, A., Aliyu, I., & Maryam, I. U. (2015). Non-toxic Antiproliferative Effect of *Ficus Carica* Fruit Extracts on Estrogen Receptor Positive Breast Cancer Cell (MCF-7). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(10), 815-821.



Isolation of antifungal bioactive compounds from an ethanolic extract of beluntas leaves (*Pluchea indica*) against *Microsporium canis*

Isolasi senyawa aktif antijamur ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica*) terhadap jamur *Microsporium canis*

Devi Safitri¹, Muhaimin², Nelson¹, Indra Lasmana Tarigan¹, Lizawati³, Madyawati Latief^{1*}

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi, Jambi

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jawa Barat

³Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Jambi

*Corresponding author: madyawatilatief@unja.ac.id

Abstract

Background: Fungus prevalence in Indonesia is still relatively high. This happens because Indonesia has high temperatures and humidity. Beluntas (*Pluchea indica*) is a shrub native to Indonesia and widely distributed in most parts of the country. *Pluchea indica* is usually used by the community as a medicine for skin diseases. The bioactive content of *P. indica* leaves has potential as an antifungal agent. One of the fungi that is pathogenic to humans is *Microsporium canis*.

Method: N-hexane, ethyl acetate, and ethanol served as the solvents for the graded maceration method of extraction over two 24-hour periods. Furthermore, using Vacuum Liquid Chromatography (VLC) and characterization with UV-Vis and FT-IR. Antifungal activity was performed by disc diffusion method.

Results: *Pluchea indica* leaves have antifungal activity in the ethanol extract of 20.08 mm (very strong), the F5 fraction of 22.24 mm (very strong), and the F5 isolate of 6.3 mm (weak) at a concentration of 4%. Based on the UV-Vis and FT-IR data, the isolate had a wavelength of 267 nm with a functional group of -OH, C=C aromatic, C-H, and C-O.

Conclusion: Isolate from the ethanol extract of *Pluchea indica* leaves has potential as an antifungal originating from the flavonoid group.

Keywords: *Pluchea indica*, antifungal, *Microsporium canis*, isolation compound

Intisari

Latar belakang: Prevalensi infeksi jamur di Indonesia masih terbilang tinggi. Hal ini terjadi karena Indonesia memiliki suhu dan kelembaban yang tinggi. Beluntas (*Pluchea indica*) merupakan tumbuhan semak asli Indonesia, tersebar luas hampir di sebagian besar wilayah Indonesia. Tumbuhan *P. indica* biasanya dimanfaatkan masyarakat sebagai obat penyakit kulit. Kandungan bioaktif yang dimiliki daun *P. indica* dapat berpotensi sebagai antijamur. Salah satu jamur yang bersifat patogen pada manusia adalah *Microsporium canis*.

Tujuan: Mengetahui aktivitas antijamur dari ekstrak etanol daun *P. indica* dan mengkarakterisasi senyawa hasil isolasinya.

Metode: Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat selama 2 x 24 jam menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol. Selanjutnya identifikasi menggunakan Kromatografi Vakum Cair (KVC) dan karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR. Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan metode difusi cakram.

Hasil: Daun *P. indica* memiliki aktivitas sebagai antijamur pada ekstrak etanol sebesar 20,08 mm (sangat kuat), fraksi F5 22,24 mm (sangat kuat) dan isolat F5 6,30 mm (lemah) pada konsentrasi 4%. Berdasarkan data spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR diperoleh isolat memiliki panjang gelombang sebesar 267 nm dengan gugus fungsi -OH, C=C cincin aromatik, C-H dan C-O.

Kesimpulan: Isolat dari ekstrak etanol daun *Pluchea indica* memiliki potensi sebagai antijamur yang berasal dari golongan flavonoid.

Kata kunci: *Pluchea indica*, antijamur, *Microsporium canis*, isolasi senyawa

1. Pendahuluan

Infeksi jamur merupakan salah satu penyakit yang sering dialami oleh manusia, dan diketahui ada sekitar 400 spesies jamur yang dapat menyerang manusia dan hewan (Hadi & Alamudi, 2019). Menurut Badan Pusat Statistik (2018), penyakit kulit menempati urutan ke-2 dari jumlah penderita yang dilaporkan oleh Dinas Kesehatan di Kota Jambi pada tahun 2016. Umumnya penyakit kulit disebabkan oleh adanya infeksi jamur. Infeksi jamur kulit dapat dibedakan menjadi dua, yaitu jamur superfisial dan dermatofitosis. Menurut Lakshmanan *et al.* (2015) angka prevalensi infeksi pada jamur superfisial sebesar 27,6% sedangkan dermatofitosis sebesar 75,6%. Angka prevalensi yang lebih tinggi dimiliki oleh orang dewasa daripada anak-anak dan remaja (Kim *et al.*, 2015). Angka prevalensi infeksi jamur di Indonesia masih tergolong besar. Hal ini dikarenakan Indonesia memiliki suhu dan kelembaban yang tinggi yang cocok untuk perkembangan jamur. Salah satu infeksi jamur yang menyerang kulit adalah *Tinea corporis* dengan jumlah penderita perempuan terbanyak pada rentang usia 40-50 tahun (Oktaviana *et al.*, 2018).

Beluntas (*Pluchea indica*) merupakan tumbuhan semak yang hidup secara liar, yang dapat ditemukan sebagian besar di Asia, India, dan Australia Utara. Tumbuhan *P. indica* berasal dari Indonesia, tersebar luas hampir di sebagian besar wilayah Indonesia (Susetyarini *et al.*, 2020). Tanaman ini dapat tumbuh di daerah kering dengan kontur tanah yang sangat kasar dan berbatu serta di dataran rendah di seluruh Indonesia (Fitriansyah & Indradi, 2017). Biasanya masyarakat memanfaatkan *P. indica* sebagai obat penyakit kulit seperti gatal pada tubuh, panu, kurap, dan berbagai penyakit lainnya yang diduga berasal dari infeksi jamur. Menurut Ramlah *et al.* (2020), ekstrak metanol daun *P. indica* mengandung senyawa alkaloid dan tanin. Penelitian lain yang dilakukan oleh Marsasi *et al.* (2019), menjelaskan bahwa senyawa aktif yang dikandung *P. indica* adalah senyawa flavonoid dan alkaloid yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Berdasarkan kajian literatur dan etnobotani tersebut, dapat diketahui bahwa *P. indica* memiliki potensi sebagai antibiotik (Latief *et al.*, 2023). Maka perlu dilakukan penelitian untuk melengkapi data yang komprehensif terkait potensi *P. indica* sebagai antibiotik terutama sebagai antijamur.

Pengujian aktivitas antijamur daun *P. Indica* juga sudah dilakukan terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans* (Ahmad & Gholib, 2013) dan jamur *C. albicans* (Yuniarni & Lukmayani, 2016). Pada penelitian ini menggunakan jamur *Microsporum canis* dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode ini juga digunakan

pada penelitian yang dilakukan oleh Alawiyah *et al.* (2016) dan Lestari (2020). Metode ini digunakan karena lebih mudah dan cepat dalam pengamatan serta murah karena tidak membutuhkan alat khusus. Selain memiliki aktivitas antijamur, *P. indica* juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antilarvasida, antibakteri, aktivitas diuretik dan dapat menyembuhkan penyakit diabetes mellitus (Fitriansyah & Indradi, 2017). Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *P. indica* terhadap jamur *M. canis*. Penelitian ini belum pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur dari ekstrak etanol, fraksi dan isolat dari daun *P. indica* dan serta mengkarakterisasi senyawa hasil isolasinya.

2. Metode

2.1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain peralatan gelas (*pyrex*), *rotary evaporator* (IKA RV 10), detektor UV 254 nm (CAMAG), Kromatografi Vakum Cair (KVC), spektrofotometer UV-Vis (8452 A Diode Array), spektrofotometer FTIR (Shimadzu 8400), inkubator (SLI-400), HVE 50 digital autoclave, *Laminar Air Flow* (LAF) ESCO, VM-300 *vortex mixer*, mikropipet 20-200 μ l, cawan petri, dan jarum ose. Bahan yang digunakan antara lain daun *P. indica* yang diperoleh dari Kabupaten Tanjung Jabung Timur Provinsi Jambi, pelarut *p.a* (*pro analysis*) dan pelarut teknis yang telah didestilasi, silika gel Merk G₆₀, reagen fitokimia, alkohol 70%, akuades (Sigma-Aldrich), *Potato Dekstrosa Agar* (PDA), antibiotik ketokonazol 200 mg, dan jamur *M. canis* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

2.2. Prosedur kerja

2.2.1 Preparasi dan ekstraksi sampel

Sampel diperoleh dari Kabupaten Tanjung Jabung Timur Provinsi Jambi. Daun *P. indica* yang digunakan adalah kelompok daun sedang (tidak muda dan tidak terlalu tua). Sebanyak 3 kg sampel daun dibersihkan, dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena cahaya matahari (Kalsum & Ayu, 2019). Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol (Indriani *et al.*, 2019) selama 2 x 24 jam (Ramadhan *et al.*, 2020). Masing-masing maserat yang diperoleh disaring dan dipisahkan dengan *rotary evaporator*.

2.2.2 Pemisahan dan pemurnian senyawa

Pemisahan dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Vakum Cair (KVC). Sampel diimpregnasi dengan silika gel dan dimasukkan ke dalam kolom yang berisi fase diam. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksan:etil asetat (10:0; 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; 0:10) dan etil asetat:etanol (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; 0:10) secara bertahap. Eluat yang diperoleh ditampung dalam vial dan dipisahkan berdasarkan tingkat kepolarannya yang kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator*. Hasil dari kromatografi kolom dilakukan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Gultom, 2019). Selanjutnya isolat yang diperoleh direkristalisasi dan diidentifikasi menggunakan skrining fitokimia, Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrofotometer FT-IR.

2.2.3 Pengujian aktivitas antijamur

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf bersuhu 121°C selama 15 menit. Pengerjaan aseptik dilakukan di *laminar air flow cabinet*. Alat yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% (Maulana *et al.*, 2020) dan dipijarkan di atas bunsen. Media dibuat dengan melarutkan 39 gr media *Potato Dekstrosa Agar* (PDA) ke dalam 1000 mL aquades (Kalsum & Ayu, 2019). *Paper disc* menggunakan kertas saring *Whatman* diameter 6 mm. Peremajaan jamur menggunakan satu koloni jamur *M. canis* diambil menggunakan jarum ose dan digoreskan secara merata pada media PDA dan diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi jamur *M. canis* diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi aquades steril dan dihomogenkan. Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 5%, 4%, 3%, 2% dan 1% (Ahmad & Gholib, 2013). Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan menggunakan metode difusi-*diffusion* (Lestari, 2020). Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri yang telah steril dan dipindahkan suspensi jamur sebanyak 0,2 mL kedalam cawan, didiamkan hingga media agar memadat. Selanjutnya diletakkan *paper disc* steril yang telah diteteskan dengan larutan uji secara aseptik dengan menggunakan pinset ke dalam cawan petri yang telah mengandung jamur uji sebelumnya. Sebagai pembanding, digunakan ketokonazol sebagai kontrol positif dan pelarut sebagai kontrol negatif. Dilakukan inkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C (Kalsum & Ayu, 2019). Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Senyawa metabolit sekunder

Sebanyak 970 gr sampel daun *P. indica* yang telah dibersihkan dan dirajang, dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi secara bertingkat. Proses perajangan dilakukan untuk memperbesar luas permukaannya sehingga proses ekstraksi dapat lebih sempurna. Pelarut yang digunakan adalah pelarut destilasi yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol. Hasil maserasi dipisahkan dengan menggunakan corong kaca dan diuapkan dengan alat *rotary evaporator*. Berdasarkan hasil skrining fitokimia (Tabel 1) dan uji aktivitas antijamur (Tabel 2), dapat diketahui bahwa ekstrak yang paling baik adalah ekstrak etanol dengan nilai rendemen sebanyak 41,33 %. Perbedaan nilai rendemen ekstrak dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah jenis pelarut dan konsentrasinya. Pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda dapat mengikat kelompok senyawa yang berbeda dengan jumlah yang juga berbeda. Begitu juga dengan tingkat konsentrasi, variasi konsentrasi juga memiliki efektivitas mengikat senyawa yang berbeda (Syamsul, *et. al.*, 2020).

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui profil senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun *P. indica*. Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol daun *P. indica* mengikuti metode penelitian sebelumnya oleh Damanik (2019) dan Putra (2017).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol

Skrining Fitokimia	Pereaksi Uji	Keterangan	Hasil		
			a	b	c
Alkaloid	Pereaksi dragendorf	Endapan merah hingga jingga	-	-	+
Fenol	FeCl ₃ 1%	Warna hitam keunguan	-	-	+
Flavonoid	HCl+ serbuk Mg	Buih dan warna jingga	-	+	+
Saponin	Tes busa	Busa konstan	-	-	+
Steroid	Lieberman Bourchard	Warna biru/hijau	+	+	+
triterpenoid	Lieberman Bourchard	Warna ungu/jingga	-	-	-

Keterangan: (a) : Ekstrak n-heksana, (b) : Ekstrak etil asetat, (c) : Ekstak etanol,
(-) : tidak terdeteksi, (+): terdeteksi

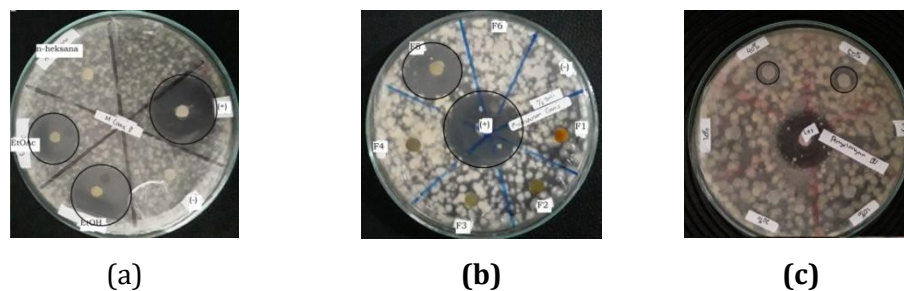
Berdasarkan Tabel 1, hasil pengujian skrining fitokimia dapat diketahui bahwa pada ekstrak n-heksan mengandung steroid, pada ekstrak etil asetat mengandung flavonoid dan steroid, sedangkan pada ekstrak etanol mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, saponin dan steroid. Pengukuran zona hambat dilakukan untuk mengetahui aktivitas antijamur yang dimiliki ekstrak daun *P. indica* terhadap jamur *M. canis*. Hasil pengukuran zona hambat terhadap ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol daun *P. indica* menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat memiliki aktivitas antibakteri melalui nilai diameter zona hambatnya

(Tabel 2), sedangkan ekstrak etil asetat tidak memberikan zona hambat, yang menunjukkan tidak memiliki aktivitas antijamur.

Tabel 2. Pengukuran zona hambat ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol

Ekstrak	Konsentrasi (%)	Pengukuran Zona Hambat (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
n-heksana	5	0	-
Etil Asetat	5	14,30	Sedang
Etanol	5	20,08	Sangat kuat
Kontrol (+)	10	25,38	Sangat kuat
Kontrol (-)	0	0	-

Berdasarkan hasil pengukuran tersebut dan tingkat respon hambatan pertumbuhan antijamur (Alfiah, *et al.*, 2015), diperoleh ekstrak etil asetat dan etanol memiliki aktivitas antijamur masing-masing yaitu 14,30 mm (sedang) dan 20,08 mm (sangat kuat). Perbedaan ini dikarenakan kemampuan suatu senyawa dalam proses menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba tergantung pada kuatnya senyawa tersebut menyerang membran sel dan konsentrasi yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antijamur yang lebih baik, maka dilanjutkan proses isolasi untuk memperoleh senyawa aktifnya.

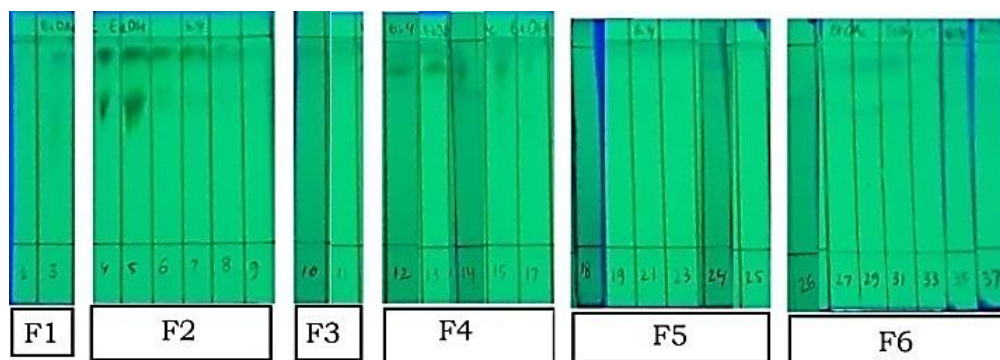


Gambar 1. Diameter zona hambat (a) Ekstrak Etanol *P. indica*, (b) Enam fraksi gabungan Hasil KVC (c) Isolat F5

3.2 Isolasi senyawa dan uji aktivitas fraksi dari ekstrak etanol daun *P. indica*

Isolasi dilakukan dengan menggunakan kromatografi vakum cair (KVC). Pemilihan KVC ini dikarenakan dalam proses pemisahan senyawanya lebih cepat yang dibantu oleh pompa vakum, sehingga lebih menghemat waktu dalam menyederhanakan senyawa yang terkandung. Diperoleh sebanyak 38 vial tampungan yang kemudian diuapkan pada suhu ruang. Fraksi-fraksi yang diperoleh diidentifikasi dengan menggunakan KLT di bawah lampu UV 254 nm dengan perbandingan eluen etil asetat: etanol (6:4). Diperoleh sebanyak 6 fraksi gabungan, yaitu: Fraksi 1 (vial 1-3), Fraksi 2 (vial 4-9), Fraksi 3 (vial 10- 11), Fraksi 4 (vial 12-17), Fraksi

5 (vial 18-25) dan Fraksi 6 (vial 26-38). Pola noda dan nilai Rf yang sama diduga merupakan kelompok senyawa yang sama (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil identifikasi dengan KLT hasil fraksi KVC dan pengelompokan berdasarkan nilai Rf dan pola nodanya

Fraksi KVC selanjutnya diskriming zona hambatnya untuk melihat potensi fraksi yang paling baik. Hasil pengukuran zona hambat fraksi gabungan hasil KVC daun *P. indica* menunjukkan bahwa hanya fraksi 5 yang aktif, memiliki diameter zona hambat 22,24 mm (Tabel 3).

Tabel 3. Pengukuran zona hambat fraksi hasil KVC

Sampel	Konsentrasi	Pengukuran Zona Hambat (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
F1	5%	0	TA
F2	5%	0	TA
F3	5%	0	TA
F4	5%	0	TA
F5	5%	22,24	Sangat kuat
F6	5%	0	TA
Kontrol (+)	10%	30,00	Sangat kuat
Kontrol (-)	0	0	-

Keterangan:

TA: Tidak Ada aktivitas penghambatan (0 mm)

Berdasarkan pengukuran tersebut, diperoleh bahwa hanya pada fraksi F5 yang menunjukkan adanya zona hambat sebesar 22,24 mm dengan aktivitas sangat kuat. Berikut adalah pengujian zona hambat terhadap fraksi hasil KVC ekstrak etanol daun *P. indica*. Selanjutnya fraksi F5 ini dilakukan pemisahan antara endapan yang berwarna coklat dengan kristal yang berwarna kuning mengkilat pada bagian dasar vial F5 (Gambar 4.a). Kristal tersebut selanjutnya direkristalisasi dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol sehingga terpisah dari pengotornya yang ikut terelusi. Setelah dilakukan rekristalisasi diperoleh kristal putih mengkilat (Gambar 4.b) sebanyak 2,808 g. Isolat F5 yang diperoleh dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang dihasilkan (Tabel 4).



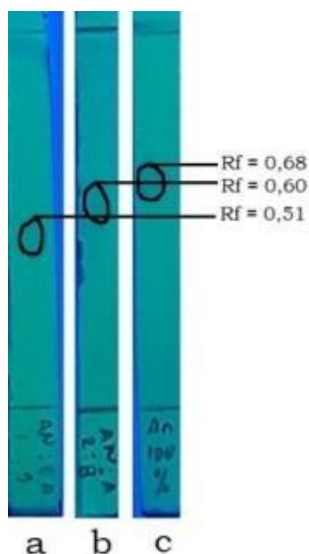
Gambar 4. Hasil isolasi (a). Endapan kristal F5 dan (b). Hasil kristalisasi isolate F5

Tabel 4. Hasil skrining fitokimia isolat F5

Skrining Fitokimia	Pereaksi Uji	Keterangan	Hasil
Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	Endapan merah hingga jingga	-
Fenol	FeCl ₃ 1%	Warna hitam keunguan	-
Flavonoid	HCl+ serbuk Mg	Buih dan warna jingga	+
Saponin	Tes busa	Busa konstan	-
Steroid	Lieberman Bourchard	Warna biru/hijau	-
Triterpenoid	Lieberman Bourchard	Warna ungu/jingga	-

Keterangan : (-) : tidak terdeteksi (+) : terdeteksi

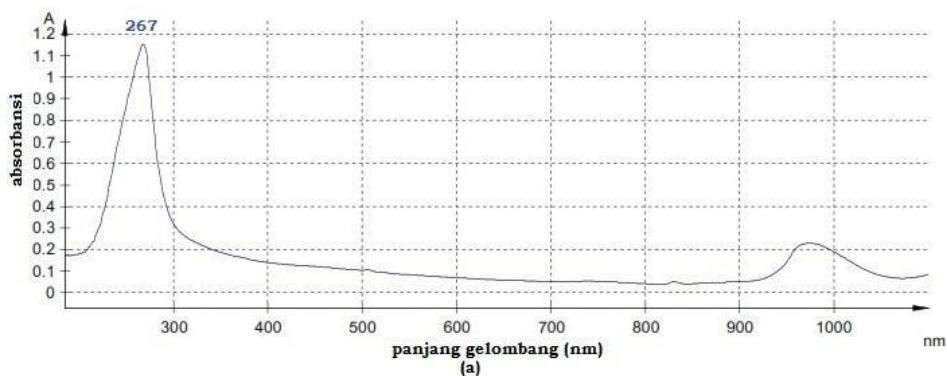
Berdasarkan hasil skrining fitokimia tersebut, dapat diketahui bahwa isolat F5 mengandung golongan flavonoid. Isolat F5 juga dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan KLT sistem 3 eluen (3 eluen yang berbeda tingkat kepolarannya). Eluen yang digunakan adalah asetonitril:etil asetat (1:9), asetonitril:aseton (2:8) dan asetonitril:aseton (10:0). Berdasarkan identifikasi KLT ini, dapat diperoleh bahwa isolat F5 yang dihasilkan memiliki pola noda tunggal dan mengindikasikan bahwa isolat yang dihasilkan telah murni. Hasil KLT dengan sistem tiga eluen dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Uji kemurnian KLT sistem 3 jenis eluen; (a) asetonitril:etil asetat (1:9); asetonitril:aseton (2:8) dan asetonitril:aseton (10:0)

3.3 Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Spektrum UV-Vis menunjukkan bahwa isolat F5 (pelarut asam sulfat) memberikan puncak serapan pada panjang gelombang 267 nm yang menunjukkan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ dari suatu kromofor C=C terkonjugasi (Gambar 6). Kromofor C=C mempunyai elektron orbital molekul pada π artinya senyawa tersebut memiliki atom yang mempunyai pasangan elektron terkonjugasi dengan atom lain yang juga mempunyai orbital yang sama (Fessenden & Fessenden, 1986). Hal ini diperkuat dari hasil spektrum IR yang menunjukkan adanya gugus fungsi C=C pada bilangan gelombang 1541 cm^{-1} . Spektrum IR dari isolat F5 ekstrak etanol daun *P. indica* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 6. Spektrum UV-Vis isolat F5

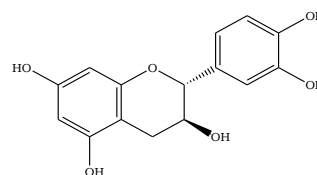


Gambar 7. Spektrum FT-IR isolat 5

Dari spektrum IR isolat F5 tersebut diperoleh pada serapan 3530 cm^{-1} menandakan adanya vibrasi ulur hidroksil (OH) dari gugus fenolik. Pada bilangan gelombang 1541 cm^{-1} yang merupakan gugus C=C yang menunjukkan adanya cincin aromatik (Gambar 8). Pada bilangan gelombang 1458 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi bengkok C-H yaitu guntingan (*scissoring*) CH_2 . Pada bilangan gelombang 1043 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan C-O yang merupakan gugus eter. Berikut hasil interpretasi gugus fungsi pada isolat yang diperoleh (Tabel 5).

Tabel 5. Interpretasi dan perbandingan spektrum IR

Interpretasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	
	Isolat F5	Catechin (Seabra <i>et al.</i> , 2017)
OH Fenol	3530	3244
C=C Aromatik	1541	1517 dan 1604
C-H Alkana	1458	1456
C-O Eter	1043	-



Gambar 8. Struktur Dugaan ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$)

Dugaan bahwa isolat merupakan catekin juga didukung oleh kesesuaian bentuk fisik isolat F5 dengan catekin. Catekin memiliki warna putih dan larut dalam air panas, hal ini sama dengan isolat yang diperoleh. Catekin juga tidak dapat larut dalam heksan dan memiliki aroma manis. Dengan demikian diduga bahwa isolat F5 tersebut merupakan senyawa turunan golongan flavonoid yaitu catekin dengan rumus struktur $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ (Gambar 8).

3.4 Aktivitas antijamur *M. canis*

Isolat F5 yang telah didapatkan kemudian diukur zona hambatnya terhadap jamur *M. canis*. Berdasarkan Tabel 6 diketahui bahwa konsentrasi hambat minimum isolat F5 yaitu pada konsentrasi 4% sebesar 6,3 mm dengan tingkat aktivitas lemah. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh dari ekstrak etanol daun *P. indica* memiliki potensi sebagai antijamur namun dengan aktivitas yang lemah pada konsentrasi rendah.

Perbedaan zona hambat yang dimiliki fraksi F5 dengan isolat F5 ini dikarenakan adanya sifat sinergetik yang dimiliki senyawanya. Dimana sifat ini akan menunjukkan aktivitas yang lebih besar pada keadaan belum murni dan dapat menurunkan aktivitas pada keadaan murni. Berdasarkan hasil KLT, pola noda fraksi F5 masih berekor, sehingga diduga masih terdapat banyak senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan jamur yang mengakibatkan zona hambat yang dihasilkan lebih besar.

Tabel 6. Pengukuran zona hambat isolat F5

Konsentrasi	Pengukuran Zona Hambat (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
1%	0	TA
2%	0	TA
3%	0	TA
4%	6,3	Lemah
5%	7,94	Lemah
Kontrol (+)	23,1	Sangat kuat
Kontrol (-)	0	-

Keterangan:

TA: Tidak Ada aktivitas penghambatan (0 mm)

Isolat F5 telah direkristalisasi dan noda yang dihasilkan pada KLT menunjukkan satu noda tunggal, namun memiliki aktivitas antijamur yang lebih kecil. Hal ini diduga karena beberapa senyawa dapat berperan baik dalam total ekstrak dibandingkan senyawa tunggal, akibat adanya efek sinergi dan interaksi positif (Rasoanaivo *et al.*, 2011; Sonam & Guleria, 2017). Katekin merupakan senyawa fenolik yang termasuk ke dalam golongan flavonoid yang memiliki sifat antijamur yang berasal dari gugus aktif hidroksi (OH) yang dimilikinya. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa senyawa katekin yang diperoleh dari isolat gambir memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* (Syarli, 2016). Penelitian lainnya juga menyebutkan ekstrak katekin dari beberapa jenis dapat menghambat bakteri gram positif (lemah) tetapi tidak dapat menghambat gram negatif (Nuryana *et al.*, 2021). Berbeda halnya dengan aktivitas antioksidan, katekin memiliki aktivitas antioksidan yang baik dengan nilai IC₅₀ berkisar 7-40 µg/mL, kategori sangat kuat.

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun *P. indica* memiliki aktivitas antijamur yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada ekstrak etanol kental sebesar 20,08 mm (sangat kuat), fraksi F5 hasil KVC sebesar 22,24 mm (sangat kuat) dan konsentrasi hambat minimum pada isolat F5 yaitu konsentrasi 4% sebesar 6,3 mm (lemah). Pada karakteristik spektrum UV-Vis isolat F5 menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 267 nm dan pada spektrum IR menunjukkan adanya gugus -OH, C=C sebagai cincin aromatik, C-H dan C-O. Senyawa yang dihasilkan diduga berasal dari golongan flavonoid yaitu katekin.

5. Ucapan terimakasih

Terima kasih kepada Universitas Jambi atas pendanaan penelitian melalui Skema Penelitian Dasar Covid-19 LPPM Tahun 2021.

Daftar pustaka

- Ahmad, R.Z. and Gholib, D. (2013) 'Penguji Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan Minyak Atsiri Daun Beluntas (*Pluchea Indica* (L) Lees.) Terhadap *Trichophyton Mentagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans* Secara In Vitro', Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, (L), pp. 406–412.
- Alawiyah, T., Khotimah, S. and Mulyadi, A. (2016) 'Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Darah (*Holothuria atra* Jeager.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Malassezia furfur* Penyebab Panu', Jurnal Ilmiah, 5(1), pp. 59–67.
- Alfiah, R., Rieska, K. and Siti, M. (2015) 'Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*', Journal Protobiont, 4(2), pp. 52–57.
- Badan Pusat Statistik (2018) Jumlah Penderita Penyakit yang dilaporkan pada Dinas Kesehatan Dirinci Per Kecamatan di Kota Jambi Tahun 2016 (Penderita).
- Damanik, L. V. (2019) Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Kloroform Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.) dengan Metode DPPH dan ABTS. Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Fessenden, R.J. and J. S. Fessenden (1986) Kimia Organik Dasar. Edisi ke-3. Jakarta.
- Fitriansyah, M.I. and Indradi, R.B. (2017) 'Review: Profil Fitokimia dan Aktivitas Farmakologi Baluntas (*Pluchea indica* L.)', Farmaka, 16(2), pp. 337–346.
- Gultom, R. (2019) 'Isolasi Senyawa Steroid β -Sitostenon dari Ekstrak Metanol Tanaman Daun Dewa', 3(1), pp. 1–6.
- Hadi, M.I. and Alamudi, M.Y. (2019) 'Imunodiagnostik pada Bakteri dan Jamur', in. Sidoarjo: Zifatama Jawaara.
- Indriani, L., Prasetyorini, P. and Saputri, A.E. (2019) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Bertingkat Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Staphylococcus aureus*', MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana), 2(3), pp. 132–139. Available at: <https://doi.org/10.24123/mpi.v2i3.1316>.
- Kalsum, U. and Ayu, A. (2019) 'Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) Sebagai Antifungi Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*', Warta Farmasi, 8(2), pp. 71–80. Available at: <https://doi.org/10.46356/wfarmasi.v8i2.117>.
- Kim, S.H. et al. (2015) 'Epidemiological Characterization of Skin Fungal Infections Between the Years 2006 and 2010 in Korea', Osong Public Health and Research Perspectives, 6(6), pp. 341–345. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phrp.2015.10.012>.
- Lakshmanan, A. et al. (2015) 'Epidemiological and clinical pattern of dermatomycoses in rural India', Indian Journal of Medical Microbiology, 33, pp. S134–S136. Available at: <https://doi.org/10.4103/0255-0857.150922>.
- Latief, M. et al. (2023) 'Screening of antibiotic candidates from nine medicinal plants Jambi Province', in AIP Conference Proceedings.
- Lestari, R. (2020) 'Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum.) terhadap *Malassezia furfur* dan *Microsporium canis*', Collaborative Medical Journal (CMJ), 3(2), pp. 76–81.
- Marsasi, B., Yuwono and Salni (2019) 'Perbandingan antara Pemberian Fraksi Daun Beluntas (

- Pluchea Indica* Lees) dan Ketokonazol Secara Invitro Terhadap *Candida Albicans* Infeksi jamur merupakan salah satu pembunuh ter besar didunia yang tidak kita sadari . Infeksi jamur merupakan penyakit Vag', 5(1), pp. 20–29.
- Maulana, R., Zulfa, F. and YSetyaningsih (2020) 'Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var . *Sapientum* L .) Terhadap Pertumbuhan', Seminar Nasional Riset Kedokteran (SENSORIK) 2020, 1(1), pp. 1–7.
- Nuryana, I. et al. (2021) 'Catechin Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Different Types of Indonesian Tea (*Camellia sinensis*)', *Annales Bogorienses*, 24(2), p. 106. Available at: <https://doi.org/10.14203/ann.bogor.2020.v24.n2.106-113>.
- Oktaviana, N., Kawilarang, A.P. and Damayanti (2018) 'Patient Profile of Tinea Corporis In Dr. Soetomo General Hospital, Surabaya From 2014 To 2015', *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 6(3), p. 200. Available at: <https://doi.org/10.20473/jbe.v6i32018.200-208>.
- Putra, I.P. (2017) Aktivitas Inhibisi Fraksi Aktif Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L) Less.) terhadap Target Obat Antimalaria *Plasmodium falciparum* Malate Quinone Oxiboreductase (PfMQO). Jakarta.
- Ramadhan, H. et al. (2020) 'Phytochemical Screening and Randemen Comparison of 96% Ethanol Extract of Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) Leaf, Flesh, and Peel', *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, pp. 103–112.
- Ramlah, M, M.W. and Pratiwi, D.E. (2020) 'Efektivitas Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) sebagai Inhibitor Korosi pada Material Baja Karbon dalam Media NaCl 3 , 5 % Effectiveness of Beluntas (*Pluchea indica* Less) Leaf Extracts as Corrosion Inhibitor Carbon Steel in 3 , 5 % NaCl Solut', pp. 86–99.
- Rasoanaivo, P. et al. (2011) 'Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of malaria: Synergy and positive interactions', *Malaria Journal*, 10(SUPPL. 1), p. S4. Available at: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-S1-S4>.
- Seabra, A.B. et al. (2017) 'Antibacterial activity of nitric oxide releasing silver nanoparticles', *Journal of Physics: Conference Series*, 838(1). Available at: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/838/1/012031>.
- Sonam, K.S. and Guleria, S. (2017) 'Synergistic antioxidant activity of natural products', *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*, 2(8), pp. 1–6.
- Susetyarini, E. et al. (2020) 'The Identification of Morphological and Anatomical Structures of *Pluchea indica*', *Journal of Physics: Conference Series*, 1539(1). Available at: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1539/1/012001>.
- Syamsul, E.S., Anugerah, O. and Supriningrum, R. (2020) 'Penetapan Rendemen Ekstrak Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* L. Alston) Berdasarkan Variasi Konsentrasi Etanol dengan Metode Maserasi', *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), pp. 147–157. Available at: <https://doi.org/10.33759/jrki.v2i3.98>.
- Syarli, R. (2016) Pengaruh Konsentrasi Larutan Katekin Isolat Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* pada Plat Resin Akrilik. Universitas Andalas, Padang.
- Yuniarni, U. and Lukmayani, Y. (2016) 'Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Beluntas, Jawer Kotok, dan Sirih Serta Kombinasinya Terhadap *Candida albicans*', *Pharmaciana*, 6(1), pp. 89–94. Available at: <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v6i1.2684>.



The relationship between knowledge and community behavior in improving the immune system during the COVID-19 pandemic era in Barong Tongkok Village

Hubungan pengetahuan dengan perilaku masyarakat dalam meningkatkan sistem imun pada era pandemi COVID -19 di Kelurahan Barong Tongkok

Stevania Windi*, Lucia Vita Inandha Dewi, Inaratul Rizkhy Hanifah

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Indonesia

*Corresponding author: windistevania@gmail.com

Abstract

Background: Within 2 years of the COVID-19 pandemic, stopping the spread of COVID-19 in the community can be done with adequate knowledge about immune system improvement behaviors and the use of health supplements to improve the body's immune system.

Objective: This study aims to determine the relationship between the level of knowledge and community behavior in improving the immune system in Barong Tongkok Village in the era of the COVID-19 pandemic.

Method: This study is a quantitative type with a cross-sectional method conducted in Barong Tongkok Village with a total sample of 356 respondents from 4,787 total populations. Analysis of results is carried out with univariate tests to concentrate and display data, while bivariate tests are statistical analyses of chi-square tests to see the relationship between two variables.

Results: A univariate analysis revealed that the level of knowledge in the high category was 55.6% and the behavior of improving the immune system in the good category was 50.8%. The results of the bivariate test analysis with the chi-square test revealed a significant relationship between the level of knowledge and the behavior of improving the immune system ($p = 0.000$).

Conclusion: There is a relationship between the level of knowledge and the behavior of improving the immune system in Barong Tongkok Village.

Keywords: Level of knowledge, behavior, immune system, COVID-19 pandemic

Intisari

Latar belakang: Dalam kurun waktu 2 tahun lamanya pandemi COVID-19 telah berlangsung, penghentian penyebaran COVID-19 di masyarakat bisa dilakukan dengan pengetahuan yang memadai tentang perilaku peningkatan sistem imun dan penggunaan suplemen kesehatan untuk memperbaiki sistem imun tubuh.

Tujuan: Studi ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara tingkat pengetahuan, dengan perilaku masyarakat dalam peningkatan sistem imun di Kelurahan Barong Tongkok di era pandemi COVID-19.

Metode: Penelitian ini termasuk jenis kuantitatif dengan metode *cross-sectional* dilakukan di Kelurahan Barong Tongkok dengan jumlah sampel 356 responden dari 4.787 populasi masyarakat, analisis hasil dilakukan dengan uji univariat untuk mempersentasikan dan menampilkan data, sedangkan uji bivariat yaitu analisis statistika uji *chi-square* untuk melihat hubungan antara dua variabel.

Hasil: Analisis univariat diperoleh bahwa tingkat pengetahuan dengan kategori tinggi sebesar 55,6%, dan perilaku peningkatan sistem imun dengan kategori baik sebesar 50,8%. Hasil analisis uji bivariat dengan uji *chi-square* diperoleh hubungan yang signifikan antara tingkat pengetahuan dengan perilaku peningkatan sistem imun ($p = 0,000$).

Kesimpulan: Terdapat hubungan antara tingkat pengetahuan dengan perilaku peningkatan sistem imun di Kelurahan Barong Tongkok.

Kata kunci: Tingkat pengetahuan, perilaku, sistem imun, pandemi COVID-19

1. Pendahuluan

Kasus COVID-19 pertama kalinya diumumkan di Indonesia pada 02 Maret 2020 dan sejak minggu kedua April, jumlah kasus meningkat secara eksponensial. Peningkatan tersebut akibat dari penularan COVID-19 yang meluas hampir ke seluruh provinsi di Indonesia, hingga per 05 Juli 2021

telah terkonfirmasi 2.313.829 kasus COVID-19 dengan angka kematian 61.140 kasus, angka kasus aktif 309.999 dan angka pasien yang sembuh adalah 1.942.690 (Kemenkes RI, 2021). Dalam kurun waktu kurang dari sebulan penyakit menular tersebut telah tersebar di hampir seluruh provinsi, salah satunya di provinsi Kalimantan Timur per tanggal 18 Juli 2021 kasus terkonfirmasi positif COVID-19 mencapai 96.564 kasus, suspek 332.383 kasus, dan angka kematian 2.392 kasus (Pemprov Kaltim, 2021). Tingginya kasus positif COVID-19 yang terjadi sehingga semua kabupaten dan kota di Kalimantan Timur berada di zona merah, salah satunya Kabupaten Kutai Barat berada di peringkat kelima per tanggal 18 Juli 2021 dengan kasus suspek yang tinggi yaitu 14.692 kasus, dengan angka kasus terkonfirmasi 5.013 kasus, pasien sembuh 3.879 kasus, dan angka kematian 81 kasus (Pemkab Kutai Barat, 2021).

Sejak ditemukannya kasus virus corona di Indonesia, Kemenkes Republik Indonesia menghimbau masyarakat untuk menerapkan perilaku hidup sehat untuk meningkatkan sistem imun tubuh seperti memperbanyak mengonsumsi sayur-sayuran dan buah-buahan, karena seseorang lebih kecil kemungkinannya untuk sakit jika mengonsumsi lebih dari dua jenis makanan tersebut. Waktu istirahat yang cukup juga dapat mempengaruhi sistem imun tubuh karena kurangnya istirahat akan menurunkan sistem imun. Sistem imun tubuh dapat berubah naik dan turun tergantung pada frekuensi seseorang berolahraga dan mengonsumsi makanan (yang mengandung nutrisi, vitamin dan mineral), suasana hati, usia, dan hormon pada tubuh. Orang dewasa memiliki antibodi yang kuat, namun seiring bertambah usia kerja sistem imun juga akan menurun, sehingga perlu pola hidup sehat untuk meningkatkan sistem imun (Amalia *et al.*, 2021).

Protokol kesehatan (prokes) sangat penting untuk dilakukan selain penerapan perilaku hidup sehat. Prokes COVID-19 dikenal dengan gerakan 5M, meliputi menjaga jarak, menggunakan masker, mencuci tangan, menghindari berkerumun dan mengurangi mobilitas. COVID-19 merupakan *self-limiting disease*, sehingga dapat pulih dengan imunitas tubuh yang baik. Sistem imun ialah sistem pertahanan/kekebalan tubuh yaitu seperti jaringan, organ, protein, dan sel yang bekerjasama dalam menjaga kekebalan tubuh (Priani, 2021). Sistem imun tubuh yang kuat merupakan salah satu cara melawan atau menghentikan virus dan perilaku meningkatkan sistem imun yaitu dengan mengonsumsi suplemen kesehatan yang mengandung satu atau lebih vitamin, mineral, asam amino, asam lemak dan serat, dan obat tradisional seperti jamu atau tanaman herbal seperti jahe, temulawak, kencur, dan lain-lain yang dapat memperkuat sistem sistem imun sehingga dapat menahan serangan virus COVID-19 (Pertiwi *et al.*, 2020).

Berdasarkan permasalahan diatas, maka penting dilakukan penelitian terkait hubungan tingkat pengetahuan dengan perilaku masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok dalam upaya

peningkatan sistem imun. Beberapa teori menyatakan bahwa perilaku seseorang biasanya dipengaruhi oleh pengetahuan yang dimilikinya. Perbedaan penelitian ini dengan yang lain adalah belum adanya penelitian sejenis yang dilakukan di Kelurahan Barong Tongkok, Provinsi Kalimantan Timur. Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat mengetahui tingkat pengetahuan dan perilaku masyarakat dalam upaya peningkatan sistem imun dan hubungan antara pengetahuan dengan perilaku dalam peningkatan sistem imun di Kelurahan Barong Tongkok.

2. Metode

2.1 Deskripsi bahan dan teknik pengambilan sampel

Jenis penelitian ini adalah kuantitatif menggunakan metode *cross-sectional*, pengumpulan data dilakukan dari bulan oktober sampai desember tahun 2022, penelitian ini dilakukan secara daring menggunakan link *google form* yang disebarakan melalui aplikasi *Whatsapp*.

Populasi masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok berjumlah 4.787 orang, untuk sampel dihitung dengan rumus proporsi binomunal, yaitu:

$$n = \frac{N Z^2_{1-\alpha/2} P(1-P)}{(N-1)d^2 + Z^2_{1-\alpha/2} P(1-P)}$$

Keterangan :

n = Besar sampel minimum

$Z^2_{1-\alpha/2}$ = Nilai distribusi normal baku (1,96²)

N = Besar populasi

P = proporis populasi 50%

D = Kesalahan (absolut) yang dapat ditolerir (0,05)

Perhitungan sampel:

$$n = \frac{4.787 \times 1,96^2 \times 0,5 (1-0,5)}{(4.787 - 1)0,05^2 + 1,96^2 \times 0,5 (1-0,5)}$$

$$n = \frac{4.787 \times 1,96^2 \times 0,25}{4.786 \times 0,05^2 + 1,96^2 \times 0,25}$$

$$n = \frac{4.787 \times 0,9604}{11,965 + 0,9604}$$

$$n = \frac{4.597,4348}{12,9254}$$

$$n = 355,689 = 356$$

Jadi, besar sampel minimum dalam penelitian ini adalah 356.

Teknik pengambilan sampel dengan metode *purposive sampling* dengan memilih sampel yang memenuhi kriteria inklusi yaitu masyarakat berusia 18-45 tahun, tingkat pendidikan akhir SMA/Perguruan Tinggi dan bukan berlatar belakang pendidikan kesehatan, pekerjaan bukan tenaga kesehatan, bersedia untuk menjadi responden, dapat membaca serta menulis memiliki aplikasi *whatsapp*, dan memahami cara mengisi *google form*. Kriteria eksklusi yaitu masyarakat yang tidak mengisi kuesioner dengan lengkap.

Alat ukur berupa kuesioner yang dimodifikasi dari kuesioner dalam penelitian Gunawan (2021), yang sudah dilakukan uji validitasnya. Kuesioner tingkat pengetahuan terdiri dari 15 pertanyaan yang telah dinyatakan valid karena semua item pertanyaan memiliki nilai r hitung $> r$ tabel (0,361). Kuesioner perilaku terdiri dari 15 item pertanyaan, namun terdapat 1 item pertanyaan tidak valid dengan nilai r hitung $< r$ tabel ($0,155 < 0,361$). Jumlah pertanyaan 14 item dianggap telah mewakili pertanyaan untuk pengujian perilaku, sehingga dilakukan penghapusan 1 item pertanyaan. Satu item pertanyaan tidak valid dikarenakan pernyataan yang ambigu dan sulit dipahami sehingga responden kebingungan dalam menjawab pertanyaan. Nilai standar *Cronbach's Alpha* untuk uji realibilitas kuesioner yaitu $> 0,60$. Hasil pengolahan data tingkat pengetahuan diperoleh $0,832 > 0,60$ maka kuesioner dinyatakan reliabel, sedangkan hasil pengolahan data kuesioner perilaku diperoleh $0,906 > 0,60$ maka kuesioner dinyatakan reliabel.

2.2 Penjelasan mengenai deskripsi jalannya penelitian

Penelitian ini dilakukan selama enam bulan dan telah mendapatkan ijin etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman dengan surat sersetujuan kelayakan etik nomor 84/KEPK-FK/X/2021. Analisis hasil dilakukan dengan uji univariat untuk mempersentasikan dan menampilkan data dalam bentuk tabel frekuensi, data tingkat pengetahuan dan perilaku masyarakat dalam meningkatkan sistem imun. Analisis bivariat untuk mengetahui hubungan antara dua variabel yaitu tingkat pengetahuan dan variabel perilaku yaitu dengan uji statistika *chi-square*. Tingkat pengetahuan dan perilaku dibagi menjadi beberapa kategori dengan cara perhitungan tercantum pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Perhitungan kategorisasi tingkat pengetahuan dan perilaku

Kategorisasi tingkat pengetahuan	Kategorisasi perilaku
Nilai terbesar = skor ideal x jumlah pertanyaan = $4 \times 15 = 60$	Nilai terbesar = skor ideal x jumlah pertanyaan = $4 \times 14 = 56$
Nilai terkecil = skor terkecil x jumlah pertanyaan = $1 \times 15 = 15$	Nilai terkecil = skor terkecil x jumlah pertanyaan = $1 \times 14 = 14$
Rentang = Nilai terbesar - nilai terkecil = $60 - 15 = 45$	Rentang = Nilai terbesar - nilai terkecil = $56 - 14 = 42$
Panjang kelas = Rentang/jumlah kelas (kategori) = $45/3 = 15$	Panjang kelas = Rentang/jumlah kelas (kategori) = $42/3 = 14$

Tabel 2. Rentang interval kategori tingkat pengetahuan dan perilaku

Rentang interval tingkat pengetahuan	Rentang interval perilaku
Rendah : 15 – 30	Kurang : 14 – 28
Sedang : 31 - 45	Cukup : 29 - 42
Tinggi : 46 – 60	Baik : 43 – 56

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini dilakukan secara daring menggunakan kuesioner yang disebarakan melalui aplikasi *whatsapp* dan terkumpul sebanyak 356 responden yang memenuhi kriteria inklusi. Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin

Karakteristik	Frekuensi	Persentase (%)
Perempuan	196	55,1
Laki - laki	160	44,9
Total	356	100

Jumlah responden yang terbanyak yaitu jenis kelamin perempuan yang berjumlah 196 orang (55,1%). Hal ini disebabkan jumlah masyarakat yang dihubungi lebih banyak perempuan yang bersedia berpartisipasi dalam mengisi kuesioner secara daring dibandingkan laki-laki. Meskipun data dari Kelurahan Barong Tongkok menyebutkan bahwa jumlah penduduk laki - laki lebih banyak dibandingkan perempuan, namun dalam penelitian tingkat partisipasi perempuan lebih tinggi. Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa jenis kelamin perempuan lebih sering dan aktif dalam mencari informasi terkait COVID-19 karena menganggap COVID-19 merupakan masalah kesehatan yang serius. Selain itu, perempuan lebih memperhatikan kesehatan karena lebih sensitif dan cenderung menggunakan perasaan dalam hal kesehatan (Mandala *et al.*, 2022). Penelitian Farihatun & Mamdy (2016) juga menjelaskan jenis kelamin perempuan lebih memperhatikan kesehatan dan memiliki perilaku yang lebih baik dalam hal menjaga kesehatan dibandingkan laki-laki. Oleh karena itu, perempuan cenderung lebih peka terhadap kondisi lingkungan sekitar dan kesehatannya (Farihatun & Mamdy, 2016).

Tabel 4. Karakteristik responden berdasarkan usia

Karakteristik	Frekuensi	Persentase (%)
18 - 25 tahun	184	51,7
26 - 30 tahun	72	20,2
31 - 35 tahun	36	10,1
36 - 45 tahun	64	18,0
Total	356	100

Kementerian Kesehatan RI menyebutkan bahwa individu yang berusia produktif yaitu 15-64 tahun. Dalam penelitian ini usia yang diambil peneliti yaitu antara 18-45 tahun, sehingga usia tersebut masih termasuk usia produktif (Kemenkes RI, 2019). Pada Tabel 4 diketahui bahwa responden yang paling banyak pada penelitian ini yaitu usia 18-25 tahun. Hal tersebut disebabkan karena pada rentang usia tersebut, seseorang cenderung memiliki rasa ingin tahu yang besar. Perilaku tersebut berdampak pada meningkatnya motivasi seseorang untuk ikut serta dalam penelitian agar menambah wawasan mengenai topik sistem imun. Selain itu, masyarakat dengan usia tersebut lebih aktif dalam menggunakan media sosial dibandingkan dengan rentang usia lain (Safitri *et al.*, 2021).

Seiring dengan bertambahnya usia dan pengalaman seseorang, berbanding lurus dengan meningkatnya daya tangkap dan pengetahuan (Budiman, 2013). Pendapat tersebut diperkuat oleh penelitian Fitriani & Andriyani (2015) yang menyatakan bahwa usia biasanya mempengaruhi pola pikir seseorang, semakin dewasa usia seseorang maka pengetahuan yang dimiliki juga semakin luas (Fitriani & Andriyani, 2015).

Tabel 5. Karakteristik responden berdasarkan pendidikan akhir

Karakteristik	Frekuensi	Persentase (%)
SMA/K Sederajat	247	69,4
Akademi/Perguruan Tinggi	109	30,6
Total	356	100

Jumlah responden terbanyak yaitu pendidikan akhir SMA/K Sederajat yaitu 247 orang (69,4%), sedangkan Akademi/Perguruan Tinggi yaitu 109 orang (30,6%). Hal ini disebabkan karena di Kelurahan Barong Tongkok sebagian besar masyarakat memiliki pendidikan akhir SMA/K dibandingkan dengan pendidikan akhir Akademi/Perguruan Tinggi. Pengetahuan dapat diperoleh melalui pendidikan informal di luar sekolah dan dari pengalaman masing-masing individu, tidak hanya dari pendidikan formal dalam sekolah. Walaupun dalam penelitian ini mayoritas masyarakat dengan tingkat pendidikan SMA/K, namun tidak menjadikan pengetahuan yang dimilikinya juga kurang (Notoatmodjo, 2012).

Tabel 6. Karakteristik responden berdasarkan pekerjaan

Karakteristik	Frekuensi	Persentase (%)
IRT/Belum/Tidak Bekerja	145	40,7
Tenaga Non ASN	55	15,4
Wiraswasta	45	12,6
Pegawai Swasta	43	12,1
Pegawai Negeri/TNI/Polri	42	11,8
Petani/Pekebun	26	7,3
Total	356	100

Keterangan: IRT = Ibu Rumah Tangga; ASN = Aparat Sipil Negara

Sebagian besar masyarakat merupakan IRT/belum/tidak bekerja dengan jumlah 145 orang (40,7%). Hal ini disebabkan karena di Kelurahan Barong Tongkok data penduduk menurut jenis pekerjaan didominasi dengan penduduk yang merupakan IRT/belum/tidak bekerja berjumlah 1.439 termasuk dengan pelajar. Responden IRT/belum/tidak bekerja memiliki lebih banyak waktu dan keingintahuan tentang COVID-19 lebih besar sehingga lebih banyak berpartisipasi. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menjelaskan bahwa seseorang yang memiliki waktu lebih banyak, dapat memperoleh informasi lebih banyak dari berbagai sumber seperti berita di televisi, internet, maupun dari keluarga atau kerabat terdekat mengenai pengetahuan dan perilaku untuk meningkatkan sistem imun (Wulandari *et al.*, 2021).

Tabel 7. Tingkat pengetahuan responden dalam meningkatkan sistem imun

Pengetahuan	Frekuensi	Persentase (%)
Tinggi	198	55,6
Sedang	137	38,5
Rendah	21	5,9
Total	356	100

Tabel 7 menunjukkan kategori tingkat pengetahuan masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok dalam meningkatkan sistem imun yang paling banyak yaitu kategori tinggi berjumlah 198 orang (55,6%), diikuti kategori sedang berjumlah 137 orang (38,5%), dan kategori rendah berjumlah 21 orang (5,9%). Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok memiliki tingkat pengetahuan tinggi, yang artinya masyarakat telah memahami definisi COVID-19, cara penularan, gejala, kelompok yang berisiko, upaya pencegahan, waktu dilakukan tes, dan membaca hasil tes. Hal yang paling utama adalah masyarakat telah mengetahui tentang perilaku yang benar untuk meningkatkan sistem imun, seperti mengatur pola hidup sehat dengan berolahraga dan tidur yang cukup serta mengonsumsi suplemen kesehatan saat tubuh merasa kurang sehat. Selain itu, masyarakat juga telah paham bahwa peningkatan sistem imun dapat dilakukan dengan mengonsumsi vitamin, salah satunya yaitu vitamin C yang terdapat dalam makanan seperti jeruk, tomat, pisang, kentang, dan kacang hijau (Wulandari *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa seseorang yang mendapatkan banyak informasi cenderung memiliki pengetahuan yang lebih luas dan dapat mengambil keputusan dengan bijak (Sulistyaningtyas, 2020). Hal tersebut menunjukkan bahwa saat masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok telah mengetahui informasi mengenai COVID-19 dan cara meningkatkan sistem imun, maka masyarakat akan dapat memilih dan mengambil keputusan terkait tindakan untuk meningkatkan sistem imun agar terhindar dari COVID-19.

Tabel 8. Perilaku responden dalam meningkatkan sistem imun

Perilaku	Frekuensi	Persentase (%)
Baik	181	50,8
Cukup	144	40,4
Kurang	31	8,7
Total	356	100

Kategori perilaku masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok dalam meningkatkan sistem imun yang terbanyak, yaitu kategori perilaku baik, cukup baik, dan kurang baik secara berturut-turut berjumlah 181 orang (50,8%), 144 orang (40,4%), dan 31 orang (8,7%). Perilaku kesehatan seseorang biasanya dipengaruhi oleh faktor-faktor tertentu, diantaranya adalah faktor pengetahuan, motivasi, persepsi, dan lingkungan tempat tinggal (Rahayu & Mulyani, 2020). Penelitian perilaku masyarakat mengenai kesehatan biasanya dinilai dari pendapatnya mengenai kerentanan penyakit, hambatan yang terjadi dalam melakukan upaya pencegahan penyakit, pendapat tentang manfaat, motivasi, dan pendapat tentang kemampuannya untuk melakukan pencegahan (Lestari, 2019).

Hasil penelitian ini menunjukkan masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok telah memiliki perilaku yang baik dalam penerapan prokes. Hal ini dapat dilihat dari sebagian besar masyarakat sudah melakukan peningkatan sistem imun seperti memberikan jarak dengan orang-orang saat berada di tempat umum atau dengan orang yang berisiko terinfeksi COVID-19, membersihkan tangan dengan *hand sanitizer*, tidak bepergian keluar kota, mengonsumsi buah-buahan, sayur-sayuran, mengatur pola makan, tidur dengan durasi 8 jam/hari, suplemen kesehatan, vitamin, serta tanaman herbal (jamu, teh, atau obat tradisional). Hal ini sejalan dengan penelitian Mujiburrahman (2020) yang menunjukkan sebanyak 43,2% masyarakat di Dusun Potorono Banguntapan Bantul D.I. Yogyakarta berperilaku cukup baik, bentuk perilaku yang dimaksud adalah kepatuhan saat berada dalam rumah tetap menjaga jarak, selalu membersihkan tangan dengan sabun atau *hand sanitizer* sebelum masuk rumah, saat bepergian keluar selalu menggunakan masker, dan menghindari bersentuhan serta bersalaman dengan orang lain (Mujiburrahman *et al.*, 2020).

Tabel 9. Hubungan pengetahuan dengan perilaku masyarakat dalam meningkatkan sistem imun

Pengetahuan	Perilaku						Total	P-value
	Baik		Cukup		Kurang			
	F	(%)	F	(%)	F	(%)	F	
Tinggi	108	30,3	75	21,1	15	4,2	198	55,6
Sedang	67	18,8	66	18,5	4	1,1	137	38,5
Rendah	6	1,7	3	0,8	12	3,4	21	5,9
Total	181	50,8	144	40,4	31	8,7	356	100

Keterangan : F (Frekuensi); nilai signifikansi = $p < 0,05$

Jumlah responden yang memiliki pengetahuan tinggi dan perilaku baik dalam peningkatan sistem imun sebanyak 108 orang (30,3%), masyarakat yang berpengetahuan sedang dan berperilaku baik berjumlah 67 orang (18,8%), sedangkan untuk kelompok masyarakat yang berpengetahuan rendah namun berperilaku baik berjumlah 6 orang (18,8%). Hasil analisis dengan *SPSS v.25.0* diperoleh nilai $p\text{-value} = <0,001$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat hubungan antara tingkat pengetahuan dengan perilaku masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok dalam meningkatkan sistem imun. Hal ini menunjukkan bahwa salah satu faktor yang mendukung upaya peningkatan sistem imun masyarakat adalah pengetahuan yang dimiliki. Masyarakat yang tahu tentang COVID-19 berarti memahami pengertian dari COVID-19, cara penularan, gejala, kelompok yang berisiko, upaya pencegahan, dan waktu pelaksanaan tes. Oleh karena itu, masyarakat akan menerapkan perilaku yang baik dengan menerapkan pola hidup sehat, mengonsumsi suplemen kesehatan dan vitamin saat tubuh merasa kurang sehat, sebagai upaya peningkatan sistem imun tubuh.

Hasil penelitian sejalan dengan penelitian Khairunnisa (2021) yang menyatakan terdapat hubungan antara tingkat pengetahuan dengan perilaku masyarakat di Desa Playak Bujik Blang Pase Kota Langsa dalam mencegah penyebaran COVID-19. Hal ini dinilai dari pengetahuan dan perilaku masyarakat yang cukup dan baik dalam menerapkan protokol kesehatan untuk mencegah COVID-19 (Khairunnisa *et al.*, 2021). Penelitian tersebut diperkuat dengan teori adaptasi yakni tindakan yang baik biasanya didorong oleh pengetahuan yang baik pula (Rizma & Adlia, 2020).

Penelitian sebelumnya juga menjelaskan bahwa masyarakat di Kabupaten Wonosobo memiliki pengetahuan tentang Covid 19 kategori baik sebesar 90% dan kategori cukup berkisar 10%. Perilaku masyarakat Kabupaten Wonosobo termasuk kategori baik (95,8%) dan kategori cukup baik hanya 4,2%. Hal ini diketahui dari perilaku seperti kebiasaan menggunakan masker, memberi jarak dengan orang-orang, dan membersihkan tangan. Ada hubungan yang signifikan antara pengetahuan dengan perilaku masyarakat Kabupaten Wonosobo terkait COVID-19 dengan nilai $p\text{-value} = 0,047$ (Purnamasari & Rahayani, 2020). Penelitian lain menunjukkan analisis statistik diperoleh nilai $p\text{-value} = 0,065$ yang berarti $<0,05$ yang artinya secara signifikan terdapat hubungan antara pengetahuan dan perilaku dalam menjalankan protokol kesehatan di masa *new normal* (Putra & Manalu, 2020).

Keterbatasan penelitian ini adalah dalam pengambilan data menggunakan kuesioner secara daring, sehingga masih banyak masyarakat yang belum memahami tata cara mengisi kuesioner secara daring. Keterbatasan lain yaitu masih banyak masyarakat yang tidak memiliki *smartphone*, atau *smartphone* yang dimiliki kurang memadai sehingga sulit untuk mengisi kuesioner.

4. Kesimpulan

Masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok memiliki tingkat pengetahuan dan perilaku yang baik dalam meningkatkan sistem imun tubuh, serta terdapat hubungan antara tingkat pengetahuan dengan perilaku masyarakat tersebut.

Ucapan terimakasih

Ucapan terimakasih kepada Universitas Setia Budi dan masyarakat di Kelurahan Barong Tongkok yang telah ikut serta dalam kelancaran selama penelitian.

Daftar Pustaka

- Amalia, L., Irwan, I., & Hiola, F. (2021). Analisis Gejala Klinis dan Peningkatan Kekebalan Tubuh untuk Mencegah Penyakit COVID-19. *Jambura Journal of Health Sciences and Research*, 2(2), 71-76. doi:<https://doi.org/10.35971/jjhsr.v2i2.6134>
- Budiman, R. A. (2013). *Kapita Selekta Kuisisioner Pengetahuan dan Sikap dalam Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Farihatun, A., & Mamdy, Z. (2016). Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Perilaku Pencegahan Penyakit Malaria pada Masyarakat di Desa Karyamukti Kecamatan Cibalong Kabupaten Garut Provinsi Jawa Barat. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 15(1), 109-121. doi:<http://dx.doi.org/10.36465/jkbth.v15i1.157>
- Fitriani, N. L., & Andriyani, S. (2015). Hubungan antara Pengetahuan dengan Sikap Anak Usia Sekolah Akhir (10-12 Tahun) tentang Makanan Jajanan di SD Negeri II Tagog Apu Padalarang Kabupaten Bandung Barat tahun 2015. *Jurnal Pendidikan Keperawatan Indonesia*, 1(1), 7-26. doi:<https://doi.org/10.17509/jpki.v1i1.1184>
- Gunawan, S., Sinsin, I., & Zani, A. Y. P. (2021). Hubungan Antara Pengetahuan dan Sikap dengan Perilaku Pencegahan COVID-19 Pada Peserta Seminar Online STIKes Raflesia 7 April 2020. *Perilaku dan Promosi Kesehatan: Indonesian Journal of Health Promotion and Behavior*, 3(1), 47-57. doi:<https://doi.org/10.47034/ppk.v3i1.4553>
- Kemkes_RI. (2019). Health Statistics. In Science as Culture (Vol. 1, Issue 4). *Kementerian Kesehatan RI*. doi:<https://doi.org/10.1080/09505438809526230>
- Kemkes_RI. (2021). Peta Sebaran COVID-19. Retrieved from <https://covid19.go.id/peta-sebaran-covid19>
- Khairunnisa, Z., Sofia, R., & Magfirah, S. (2021). Hubungan Karakteristik Dan Tingkat Pengetahuan Dengan Perilaku Pencegahan Covid-19 pada Masyarakat Desa Paya Bujok Blang Pase Kota Langsa. *AVERROUS: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh*, 7(1), 1-14.
- Lestari, A. O. A. W. (2019). Hubungan pengetahuan dan sikap terhadap perilaku cuci tangan pada masyarakat Kelurahan Pegirian. *Jurnal Promkes: The Indonesian Journal of Health Promotion Health Education*, 7(1), 1-11. doi:<https://doi.org/10.20473/jpk.V7.I1.2019.1-11>
- Mandala, M. S., Inandha, L. V., & Hanifah, I. R. (2022). Hubungan Tingkat Pendapatan dan Pendidikan dengan Perilaku Masyarakat Melakukan Swamedikasi Gastritis di Kelurahan Nunleu Kota Kupang: Relationship of Income and Education Level with the Decision of the Community to Self-Medicare Gastritis in Nunleu Village Kupang City. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 4(1), 62-70. doi:<https://doi.org/10.25026/jsk.v4i1.1094>
- Mujiburrahman, M., Riyadi, M. E., & Ningsih, M. U. (2020). Hubungan pengetahuan dengan perilaku pencegahan COVID-19 di masyarakat. *Jurnal Keperawatan Terpadu*, 2(2), 130-140.

- Notoatmodjo, S. (2012). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Pemkab_Kutai_Barat. (2021). Pusat Informasi Perkembangan COVID-19 di Kabupaten Kutai Barat. Retrieved from <https://covid19.kutaiarakab.go.id/>
- Pemprov_Kaltim. (2021). Kaltim Tanggap COVID-19. Retrieved from <https://covid19.kaltimprov.go.id/>
- Pertiwi, R., Notriawan, D., & Wibowo, R. H. (2020). Pemanfaatan Tanaman Obat Keluarga (TOGA) Meningkatkan Imunitas Tubuh sebagai Pencegahan COVID-19. *Dharma Raflesia: Jurnal Ilmiah Pengembangan Dan Penerapan IPTEKS*, 18(2), 110-118. doi:<https://doi.org/10.33369/dr.v18i2.12665>
- Priani, S. E. (2021). The Immunostimulant Activity of Tibb an-Nabawi Natural Products: A Literature Review. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 17(1), 46-55. doi:<https://doi.org/10.20885/jif.vol17.iss1.art5>
- Purnamasari, I., & Rahayani, A. E. (2020). Tingkat pengetahuan dan perilaku masyarakat Kabupaten Wonosobo tentang Covid-19. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 10(1), 33-42.
- Putra, Y. I. W., & Manalu, N. V. (2020). Tingkat Pengetahuan Dengan Perilaku Warga Dalam Menjalankan Protokol Kesehatan di Masa New Normal Pandemi Corona. *Community of Publishing In Nursing*, 8(4), 366-373. doi:<https://doi.org/10.24843/coping.2020.v08.i04.p04>
- Rahayu, C. D., & Mulyani, S. (2020). Pengambilan Keputusan Klinis Perawat. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 10(1), 1-11.
- Rizma, S., & Adlia, M. (2020). Pengetahuan terkait Usaha Pencegahan Coronavirus Disease (COVID-19) di Indonesia. *HIGEIA*, 4(3), 333-346. doi:<https://doi.org/10.15294/higeia.v4i3.37844>
- Safitri, A. N., Purwidyaningrum, I., & Hanifah, I. R. (2021). Pengaruh Edukasi Terhadap Pengetahuan Swamedikasi Batuk pada Anak di Kecamatan Wonosari Kabupaten Klaten Jawa Tengah. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 159-168.
- Sulistyaningtyas, T. (2020). Informasi Wabah Virus Covid-19: Kuasa Pengetahuan dan Kelas Sosial. Retrieved from <https://sinta.ristekbrin.go.id/covid/penelitian/detail/80>
- Wulandari, D., Triswanti, N., & Yulyani, V. (2021). Hubungan Tingkat Pengetahuan dengan Perilaku Pencegahan COVID-19 di Desa Lebak Peniangan Lampung. *ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 2(2), 55-61. doi:<https://doi.org/10.37148/arteri.v2i2.154>



Determinant analysis of Length of Stay (LoS) in Covid-19 isolation room at RSUD Jend. A. Yani Metro City

Analisis determinan terhadap *Length of Stay* (LoS) di ruang isolasi Covid-19 RSUD Jend. A. Yani Kota Metro

Devina Harti Syaputri¹, Dian Ratih Laksmiawati², Prih Sarnianto², Andreas Infianto³

¹ Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian, Universitas Pancasila

² Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

³ RSUD Jend. A. Yani, Kota Metro, Lampung

* Corresponding author: zeeya0307@gmail.com

Abstract

Background: The increasing incidence of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Indonesia affects the need for hospital inpatient services. One of the parameters of service quality and the use of hospital resources is the length of stay (LOS).

Objective: To find the determinants of COVID-19 that affect LOS in hospitals.

Methods: Retrospective observational data collection using a cross-sectional study design. The sampling method used was total sampling during the January-August 2021 hospitalization period in the Isolation Room of the General Hospital of Jend. A. Yani Metro City. The data used is medical record data. Bivariate analysis uses Chi Square, while multivariate analysis uses Multiple Logistics Regression.

Results: The sample consisted of 443 patients who were treated during the period January-August 2021 in the COVID-19 isolation room at RSUD Jend. A. Yani Metro City. The median LOS is 6 days. Multiple logistic regression analysis shows that the determinants of LOS include severity, diabetes mellitus, heart disease, and D-Dimer.

Conclusion: Severity, comorbid diabetes mellitus, comorbid heart disease, and D-Dimer value are the determinants of LOS in confirmed COVID-19 patients in the COVID-19 isolation room at General Ahmad Yani Hospital, Lampung Province.

Keywords: Determinants, Coronavirus Disease, LOS, hospital

Intisari

Latar belakang: Angka kejadian *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) yang mengalami peningkatan di Indonesia mempengaruhi kebutuhan layanan rawat inap rumah sakit. Salah satu parameter mutu layanan dan penggunaan sumber daya rumah sakit adalah *length of stay* (LOS).

Tujuan: Untuk mencari determinan COVID-19 yang berpengaruh terhadap LOS di rumah sakit.

Metode: Pengambilan data secara retrospektif observasional menggunakan desain studi *cross sectional*. Metode pengambilan sampel menggunakan total sampling selama periode rawat Januari-Agustus 2021 di Ruang Isolasi RSUD Jend. A. Yani Kota Metro. Data yang digunakan adalah data rekam medis. Analisis bivariat dengan menggunakan Chi Square, sedangkan analisis multivariat menggunakan Regresi Logistik Ganda.

Hasil: Sampel berjumlah 443 pasien yang di rawat selama periode Januari-Agustus 2021 di ruang isolasi COVID-19 RSUD Jend. A. Yani Kota Metro. Median LOS adalah 6 hari. Analisis regresi logistik ganda menunjukkan bahwa determinan LOS meliputi; tingkat keparahan, diabetes mellitus, penyakit jantung, D-Dimer.

Kesimpulan: Tingkat keparahan, komorbid diabetes mellitus, komorbid penyakit jantung, nilai D-Dimer merupakan determinan terhadap LOS pasien COVID-19 terkonfirmasi di ruang isolasi COVID-19 RSUD Jenderal Ahmad Yani Provinsi Lampung.

Kata kunci: Determinan, *Coronavirus Disease*, LOS, rumah sakit

1. Pendahuluan

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) adalah infeksi saluran pernafasan yang disebabkan oleh virus *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-COV-2). Jumlah orang di Indonesia yang terinfeksi COVID-19 semakin meningkat setiap harinya. Hingga awal Januari 2022, Pemerintah Republik Indonesia telah melaporkan 4.114.689 kasus terkonfirmasi COVID-19. Sedangkan di Provinsi Lampung dilaporkan 49.742 kasus terkonfirmasi dan 3.825 kasus kematian. Tingginya kasus infeksi COVID-19 mengakibatkan terjadinya peningkatan pada layanan kesehatan di rumah sakit. Adanya peningkatan ini harus disertai dengan evaluasi terhadap layanan yang telah diberikan, salah satunya adalah dengan menghitung LOS (*Length of Stay*).

Beberapa penelitian menyatakan bahwa ada determinan/faktor-faktor yang mempengaruhi LOS. Faktor non klinis pasien yang dapat mempengaruhi LOS adalah usia, jenis kelamin, dan kesenjangan antara daerah perkotaan dan pedesaan (Tedja, 2012; Crankson *et al.*, 2022). Untuk faktor klinis yang mempengaruhi LOS pada pasien COVID-19 yaitu tingkat keparahan, jenis dan jumlah komorbid yang diderita. Jenis komorbid seperti penyakit paru, Diabetes (DM), hipertensi, kehamilan dan penyakit jantung (Crankson *et al.*, 2022; Burhan, 2020; Liu *et al.*, 2020; Grace, 2020; Lokken *et al.*, 2021; Thiruvengadam *et al.*, 2021). Selain itu, faktor hasil laboratorium seperti D-Dimer dan saturasi oksigen juga dapat berpengaruh pada LOS pasien COVID-19 (Poudel *et al.*, 2021; Lancet *et al.*, 2021), dan yang terakhir adalah faktor pengobatan (Damayanti *et al.*, 2021). Namun demikian, penelitian tentang determinan terhadap LOS di Provinsi Lampung masih sangat terbatas. Hingga Desember 2021, RSUD. Jend. A. Yani Kota Metro Provinsi Lampung sudah melayani 1.919 pasien COVID-19. Tingginya kasus COVID-19 membuat RS harus dapat mengatur ulang sumber daya yang dimiliki. Hal tersebut ditujukan agar RS dapat memberikan pelayanan yang bermutu dan aman untuk semua pasien yang di rawat.

2. Metode

Metode penelitian dengan studi potong lintang yang dilakukan di RSUD Jend. A. Yani Kota Metro, Provinsi Lampung. Populasi penelitian adalah seluruh pasien COVID-19 yang dirawat di RSUD. Jend. A. Yani Kota Metro Provinsi Lampung pada bulan Januari-Agustus 2021. Penelusuran data dengan menggunakan metode retrospektif sedangkan pengambilan sampel menggunakan metode total sampling. Penelitian ini menggunakan kriteria inklusi yaitu pasien COVID-19 terkonfirmasi periode rawat inap Januari – Agustus 2021 di ruang isolasi RSUD. Jend. A. Yani yang dipulangkan dengan kondisi klinis membaik. Sedangkan kriteria eksklusi adalah rekam medis pasien tidak

lengkap, pasien pulang atas permintaan sendiri, pasien rujuk ke rumah sakit lain dan pasien meninggal.

Penelitian ini menggunakan variabel bebas yaitu jenis kelamin, usia, asal daerah, jumlah komorbid, tingkat keparahan, jenis komorbid, D-Dimer, saturasi oksigen, jenis antivirus. Nilai D-Dimer didefinisikan meningkat apabila $\geq 0,5 \mu\text{g/L}$ dan saturasi oksigen dikatakan menurun bila $< 95\%$. Variabel terikat adalah LOS yaitu jumlah hari rawat pasien dari awal masuk sampai diperbolehkan pulang dari rumah sakit. Pada studi ini LOS pasien dikatakan normal apabila ≤ 6 hari dan dikatakan meningkat apabila > 6 hari. Data akan dianalisis menggunakan analisis statistik. Analisis univariat dilakukan untuk melihat karakteristik subjek penelitian. Analisis bivariat dilakukan menggunakan *Chi Square*. Variabel bebas dengan nilai $p < 0,25$ akan dianalisis menggunakan metode regresi logistik ganda. Uji statistik yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan nilai $p < 0,05$ untuk melihat makna signifikansi dari variabel yang digunakan. Uji statistik menggunakan SPSS versi 25.

3. Hasil dan pembahasan

Pada bulan Januari-Agustus 2021, sebanyak 1.140 pasien dirawat di ruang isolasi COVID-19 RSUD Jend. A. Yani Kota Metro yang terdiri dari 28 pasien suspek, 63 pasien *probable* dan 1.049 pasien terkonfirmasi COVID-19. Dari 1.049 pasien terkonfirmasi sebanyak 696 pasien dieksklusi, terdiri dari 298 pasien meninggal, 34 pasien pulang paksa, 14 pasien dirujuk, dan 260 pasien dengan rekam medis yang tidak lengkap, sehingga didapat 443 pasien sebagai sampel penelitian dan dapat dilakukan uji statistik. Median LOS dari sampel didapat 6 hari dengan mayoritas pasien memiliki LOS ≤ 6 hari sejumlah 268 pasien (60,5%). Untuk karakteristik pasien COVID-19 terkonfirmasi mayoritas (Tabel 1) memiliki usia antara ≤ 60 tahun (70,4%), berjenis kelamin laki-laki (50,3%), berasal dari luar Metro (56,7%), memiliki tingkat keparahan penyakit sedang (62,3%), tidak ada komorbid (49,9%), memiliki komorbid diabetes mellitus (22,6%), nilai D-Dimer $\geq 0,5 \mu\text{g/L}$ (58,7%), dengan saturasi oksigen $\geq 95\%$ (54,9%) dan menggunakan antivirus favipiravir (53%).

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Variabel	Kategori	Jumlah (n=443)	Proporsi (%)
A. Demografi			
1. Usia	• ≤ 60 tahun	312	70,4
	• >60 tahun	131	29,6
2. Jenis Kelamin	• Laki-Laki	223	50,3

Variabel	Kategori	Jumlah (n=443)	Proporsi (%)
3. Asal daerah	• Perempuan	220	49,7
	• Metro	192	43,3
	• Luar Metro	251	56,7
B. Klinis			
1. Tingkat keparahan	• Sedang	276	62,3
	• Berat	167	37,7
2. Jumlah komorbid	• Tidak ada komorbid	221	49,9
	• 1 komorbid	163	36,8
	• ≥2 komorbid	59	13,3
3. Jenis Komorbid	• Hipertensi (HT)	41	9,3
	• Diabetes mellitus (DM)	100	22,6
	• Penyakit jantung	50	11,3
	• Komorbid lain	82	18,5
C. Hasil Lab Klinis			
1. Nilai D-Dimer	• ≤ 0,5 ug/liter	183	41,3
	• > 0,5 ug/liter	260	58,7
2. Saturasi oksigen	• ≥ 95%	243	54,9
	• < 95%	200	45,1
D. Jenis Antivirus	• Remdesivir	208	47
	• Favipiravir	235	53
E. Length of stay (LOS)	• ≤ 6 hari	268	60,5
	• > 6 hari	175	39,5

Dari hasil penelitian (Tabel 1) didapatkan median LOS adalah 6 hari. Dari 443 sampel dirawat, mayoritas yang dirawat ≤ 6 hari. Menurut Rees *et al.* (2020), median LOS berkisar antara 4-53 hari. Hasil tersebut dapat dipengaruhi karena adanya perbedaan pada penatalaksanaan COVID-19 setiap negara khususnya karena perbedaan kriteria rawat dan pulang pasien dari RS (Surendra *et al.*, 2021).

Hasil penelitian menunjukkan dari 443 sampel penelitian, didapatkan mayoritas pasien COVID-19 terkonfirmasi berusia ≤ 60 tahun (Tabel 1). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di dunia, usia mayoritas pasien adalah <60 tahun (Maharianingsih *et al.*, 2022). Hal tersebut dapat disebabkan karena kelompok usia produktif mempunyai tingkat mobilisasi lebih sering dibanding usia yang lebih tua (Kraemer *et al.*, 2020). Pada analisis bivariat (Tabel 2) didapatkan hasil, usia memiliki nilai signifikansi 0,029. Hasil tersebut serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Chiam *et al.*, bahwa usia merupakan determinan terhadap LOS (Chiam *et al.*, 2021). (Wang *et al.*, 2022) menyatakan dalam penelitiannya bahwa usia tua memiliki faktor resiko yang lebih tinggi untuk

dirawat lebih lama di rumah sakit. Penyebab dari hal tersebut karena bertambahnya usia seseorang membuat imunitas terhadap infeksi akan lebih lemah (Niu *et al.*, 2020).

Pada Tabel 2 hasil analisis bivariat yang telah dilakukan terlihat bahwa usia, asal daerah, tingkat keparahan, komorbid DM, komorbid penyakit jantung, jumlah komorbid, D-Dimer, dan saturasi oksigen merupakan determinan yang signifikan terhadap LOS pasien. Tahapan selanjutnya yaitu analisis multivariat menggunakan analisis regresi logistik ganda. Hasil analisis multivariat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa tingkat keparahan ($p= 0,000$ dan $OR= 9,964$), diabetes mellitus ($p=0,018$ dan $OR= 1,824$), penyakit jantung ($p=0,005$ dan $OR 5,830$), D-Dimer ($p=0,004$ dan $OR= 3,259$) merupakan determinan terhadap LOS.

Tabel 2. Hasil analisis bivariat

No	Variabel	LOS ≤6 hari		LOS >6 hari		Sig.
		n	%	n	%	
1	Usia					0,029
	≤60 tahun	199	74,25	113	64,57	
	>60 tahun	69	25,75	62	35,43	
2	Jenis Kelamin					0,340
	Laki-Laki	130	48,51	93	53,14	
	Perempuan	138	51,49	82	46,86	
3	Asal Daerah					0,033
	Metro	127	47,39	65	37,14	
	Luar Metro	141	52,61	110	62,86	
4	Tingkat Keparahan					0,000
	Sedang	206	76,87	70	40,00	
	Berat	62	23,13	105	60,00	
5	Jumlah Komorbid					0,005
	Tidak ada komorbid	150	55,97	71	40,57	
	1 komorbid	89	33,21	74	42,29	
	≥2 komorbid	29	10,82	30	17,14	
6	Jenis komorbid					
	Hipertensi	21	14,69	20	15,38	0,202
	Diabetes mellitus	48	33,80	52	40,00	0,004
	Penyakit jantung	23	16,20	27	20,77	0,026
	Komorbid lain	51	35,92	31	23,85	0,727
7	Nilai D-Dimer					0,000
	≤ 0,5 ug/liter	132	49,25	51	29,14	
	> 0,5 ug/liter	136	50,75	124	70,86	
8	Saturasi Oksigen					0,000

No	Variabel	LOS ≤6 hari		LOS >6 hari		Sig.
		n	%	n	%	
	≥95%	182	67,91	61	34,86	
	< 95%	86	32,09	114	65,14	
9	Antivirus					0,347
	Remdesivir	121	45,15	87	49,71	
	Favipiravir	147	54,85	88	50,29	

Sig. = nilai signifikansi; LOS = *length of stay*

Berdasarkan jenis kelamin pada Tabel 1, sampel penelitian mayoritas berjenis kelamin laki-laki sebanyak 50,3%. Penelitian yang dilakukan di beberapa negara dan khususnya di Indonesia mempunyai hasil yang sama bahwa jenis kelamin mayoritas adalah laki-laki (Baihaqi & Rumaropen, 2022). Hasil yang berbeda oleh Wu *et al.* (2020) penelitiannya melaporkan jenis kelamin mayoritas adalah perempuan. Pada Tabel 2 memperlihatkan hasil nilai signifikansi dari variabel jenis kelamin sebesar 0,340, sehingga dapat diartikan bahwa jenis kelamin pasien COVID-19 terkonfirmasi bukan merupakan determinan terhadap LOS. Wang *et al.* (2020) dan Liu *et al.* (2020) dalam penelitiannya juga menyatakan jenis kelamin tidak memiliki hubungan terhadap LOS.

Berdasarkan asal daerah dari sampel penelitian mayoritas berasal dari luar Kota Metro (Tabel 1). Hal ini berkaitan dengan kesenjangan tersedianya pelayanan kesehatan antara daerah perkotaan dan pedesaan. Transportasi juga merupakan kendala lain untuk mengakses fasilitas kesehatan. Pasien cenderung tidak segera pergi ke fasilitas kesehatan jika jarak tempuh jauh. Kesenjangan tingkat pendidikan dan ekonomi antara penduduk desa dan kota juga berpengaruh dalam perilaku kesehatan preventif (Huang *et al.*, 2017). Hasil analisis bivariat (Tabel 2) terhadap variabel asal daerah menunjukkan nilai signifikansi 0,033 hal ini berarti asal daerah merupakan determinan yang signifikan terhadap LOS.

Dilihat dari tingkat keparahan mayoritas mengalami tingkat keparahan sedang sebanyak 62,3% (Tabel 1). Maharianingsih *et al.* (2022) dalam penelitiannya menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian ini yaitu mayoritas sampel yang dirawat memiliki tingkat keparahan sedang. Hal ini dikarenakan bahwa RS merupakan fasilitas kesehatan rujukan untuk pasien dengan tingkat keparahan sedang-kritis (Burhan, 2020). Hasil analisis bivariat dan multivariat dari tingkat keparahan memperlihatkan signifikansi hasil dengan LOS pasien. Wang *et al.* (2022) dalam penelitiannya juga menyatakan bahwa tingkat keparahan memiliki pengaruh yang signifikan terhadap LOS. Hal ini dapat disebabkan karena virus memiliki efek sitopatik dan respons inflamasi

serta kemampuannya untuk menghindar dari sistem imun inang yang pada beberapa kasus berat akan menyebabkan ARDS, sepsis, syok sepsis dan kerusakan organ (Liu *et al.*, 2020).

Pasien tanpa komorbid mendominasi sampel penelitian sebanyak 49,9% (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena munculnya variansi virus COVID-19 dengan tingkat penularan yang tinggi sehingga dibutuhkan perawatan di RS. Tetapi usia produktif tanpa komorbid pun banyak yang dirawat di rumah sakit. Pada hasil analisis bivariat (Tabel 2) jumlah komorbid menunjukkan nilai signifikansi 0,005 yang artinya jumlah komorbid pasien merupakan determinan yang signifikan terhadap variabel LOS. Menurut Crankson *et al.* (2022), pasien yang memiliki komorbid tinggal 3 hari lebih lama dirumah sakit dibandingkan dengan pasien tanpa komorbid. Thiruvengadam *et al.* (2021) juga mengatakan bahwa pasien yang memiliki lebih dari 2 komorbid akan memiliki peningkatan LOS yang signifikan ($p=0,008$). Hal ini dikarenakan pasien dengan komorbid memiliki faktor resiko yang lebih tinggi untuk terinfeksi COVID-19 dan pasien dengan >1 komorbid mempunyai resiko keparahan penyakit yang lebih berat (Sanyaolu *et al.*, 2020).

Dilihat dari Tabel 1 menunjukkan jenis komorbid mayoritas yang di derita pasien yaitu DM sebanyak 22,6%. Hasil tersebut selaras dengan hasil penelitian lain yaitu mayoritas pasien COVID-19 mempunyai komorbid DM, hipertensi dan kardiovaskuler (Gao *et al.*, 2020; Thiruvengadam *et al.*, 2021). Hasil penelitian yang ditunjukkan oleh Tabel 2 dan 3 pada variabel jenis komorbid terlihat bahwa ada 2 jenis penyakit dengan nilai signifikansi <0,05 yaitu DM dan penyakit jantung. Hal ini berarti bahwa jenis penyakit DM dan penyakit jantung merupakan determinan yang signifikan terhadap LOS pasien dibanding jenis penyakit yang lain. Hal ini dikarenakan pada pasien dengan komorbid DM akan menyebabkan prognosis penyakit yang buruk (Sanyaolu *et al.*, 2020).

Tabel 3. Hasil analisis multivariat

No	Variabel	Sig.	OR
1	Tingkat keparahan	0,000	9,964
2	Diabetes mellitus	0,018	1,824
3	Penyakit jantung	0,005	5,830
4	D-Dimer	0,004	3,259

(Kraemer *et al.*, 2020)OR= odds ratio; Sig. = nilai signifikansi

Pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa pasien terbanyak adalah pasien dengan nilai D-Dimer >0,5 µg/L sebesar 58,7%. Hasil ini serupa dengan hasil yang dilakukan oleh Thiruvengadam *et al.* (2021) yaitu nilai D-Dimer tidak normal berhubungan dengan perburukan penyakit sehingga pasien membutuhkan rawat inap. Pada Tabel 2 dan 3 penelitian ini memperlihatkan D-Dimer merupakan determinan dari LOS. Hasil ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan Thiruvengadam *et al.*

(2021) bahwa LOS dipengaruhi secara signifikan oleh nilai D-Dimer. Hal ini berkaitan dengan D-Dimer sebagai penanda pada gangguan koagulasi pasien COVID-19. Nilai D-Dimer akan meningkat seiring dengan peningkatan prognosis pasien dengan COVID-19 (Poudel *et al.*, 2021).

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa sampel penelitian mayoritas masuk RS dengan nilai saturasi oksigen $\geq 95\%$ yaitu sebanyak 54,9%. Hal ini mungkin disebabkan karena pasien dengan derajat sedang merupakan pasien mayoritas yang dirawat di ruang isolasi. Pasien COVID-19 dengan tingkat keparahan sedang memiliki gejala klinis pneumonia yaitu batuk, demam, nafas cepat dan sesak tetapi gejala pneumonia berat termasuk $SpO_2 > 93\%$ dengan udara ruangan tidak ada (Burhan, 2020). Berdasarkan hasil analisis bivariat (Tabel 2) pada variabel saturasi oksigen menunjukkan bahwa saturasi oksigen merupakan determinan terhadap LOS. Thiruvengadam *et al.* (2021) dalam penelitiannya menyatakan bahwa saturasi oksigen yang abnormal akan memiliki hubungan yang signifikan dengan LOS pasien ($p < 0,001$). Menurunnya saturasi oksigen pada pasien COVID-19 akan menyebabkan kegagalan dalam hal transport oksigen ke seluruh tubuh sehingga dibutuhkan evaluasi lebih lanjut di rumah sakit.

Dari hasil penelitian, jenis antivirus yang paling banyak digunakan pada pasien COVID-19 di RSUD Jend. A. Yani adalah favipiravir sebanyak 53% (Tabel 1). Damayanti *et al.* (2021), menyatakan dalam penelitiannya bahwa mayoritas pasien mendapatkan favipiravir sebagai antivirus COVID-19. Favipiravir memiliki kemanjuran yang menjanjikan untuk mengobati COVID-19, terutama pada pasien berat/kritis. Tetapi pada hasil analisis bivariat (Tabel 2) terhadap variabel jenis antivirus menunjukkan bahwa antivirus bukan determinan dari *length of stay* (LOS). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Gao *et al.*, yang menunjukkan bahwa penggunaan antivirus tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap LOS (Gao *et al.*, 2020).

Beberapa keterbatasan pada penelitian ini yaitu metode penelitian menggunakan desain studi *cross sectional* dengan pengambilan data secara retrospektif. Selain itu, sampel penelitian berasal dari satu lokasi penelitian. Yang terakhir, terdapat banyak determinan lainnya yang belum dapat dianalisis karena keterbatasan sumber daya maupun kelengkapan rekam medis yang kurang.

4. Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa determinan yang signifikan terhadap LOS pasien COVID-19 terkonfirmasi di RSUD Jend. A. Yani Kota Metro adalah tingkat keparahan COVID-19, komorbid DM dan penyakit jantung serta peningkatan nilai D-Dimer. Untuk pasien yang dirawat dengan kondisi tingkat keparahan berat dengan disertai komorbid penyakit jantung dan nilai D-

Dimer yang tinggi akan memiliki LOS yang lebih lama dibandingkan pasien tanpa kondisi tersebut. Sehingga, diperlukan adanya tindakan preventif dan perhatian yang lebih tinggi pada pasien-pasien dengan kondisi yang disebutkan sebelumnya. Selain itu, diperlukannya penelitian lanjutan untuk melihat determinan yang dapat mempengaruhi LOS di rumah sakit.

Ucapan terimakasih

Ucapan terimakasih kami ucapkan kepada Direktur dan staf RSUD Jend. A. Yani sebagai tempat dimana penelitian dilakukan.

Daftar pustaka

- Baihaqi, F. A., & Rumaropen, H. (2022). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Lama Rawat Inap Pasien COVID-19 di RSUD Serui Provinsi Papua: Studi Potong Lintang. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 8(4), 187. doi:<https://doi.org/10.7454/jpdi.v8i4.627>
- Burhan, E. (2020). *Pedoman Tatalaksana COVID-19 Edisi 3*.
- Chiam, T., Subedi, K., Chen, D., Best, E., Bianco, F. B., Dobler, G., & Papas, M. (2021). Hospital Length of Stay among COVID-19-Positive Patients. *Journal of Clinical Translational Research*, 7(3), 377-385. doi:<https://doi.org/10.18053/jctres.07.202103.010>
- Crankson, S., Pokhrel, S., & Anokye, N. K. (2022). Determinants of COVID-19-related length of hospital stays and long COVID in Ghana: a cross-sectional analysis. *International Journal of Environmental research Public Health*, 19(1), 527. doi:<https://doi.org/10.3390/ijerph19010527>
- Damayanti, H., Sajinadiyasa, I. G. K., Risni, H. W., & Sauriasari, R. (2021). The Effectiveness and Safety of Favipiravir in COVID-19 Hospitalized Patients at Tertiary Referral Hospital, Bali, Indonesia. *Kesmas: Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 16(4). doi:<https://doi.org/10.21109/kesmas.v16i4.5433>
- Gao, J., Huang, X., Gu, H., Lou, L., & Xu, Z. (2020). Predictive Criteria of Severe Cases in COVID-19 Patients of Early Stage: a Retrospective Observational Study. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 34(10), e23562. doi:<https://doi.org/10.1002/jcla.23562>
- Grace, C. (2020). Manifestasi Klinis dan Perjalanan Penyakit pada Pasien Covid-19. *Jurnal Majority*, 9(1), 49-55.
- Huang, C.-C., Leu, H.-B., Yin, W.-H., Tseng, W.-K., Wu, Y.-W., Lin, T.-H., Yeh, H.-I., Chang, K.-C., Wang, J.-H., & Wu, C.-C. (2017). Optimal achieved blood pressure for patients with stable coronary artery disease. *Scientific Reports*, 7(10137). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-017-10628-z>
- Kraemer, M. U. G., Yang, C.-H., Gutierrez, B., Wu, C.-H., Klein, B., Pigott, D. M., Group, O. C.-D. W., Du Plessis, L., Faria, N. R., & Li, R. (2020). The Effect of Human Mobility and Control Measures on The COVID-19 Epidemic in China. *Science*, 368(6490), 493-497. doi:<https://doi.org/10.1126/science.abb4218>
- Lancet, E. A., Gonzalez, D., Alexandrou, N. A., Zabar, B., Lai, P. H., Hall, C. B., Braun, J., Zeig-Owens, R., Isaacs, D., & Ben-Eli, D. (2021). Prehospital Hypoxemia, Measured by Pulse Oximetry, Predicts Hospital Outcomes during The New York City COVID-19 Pandemic. *Journal of the American College of Emergency Physicians Open*, 2(2), e12407. doi:<https://doi.org/10.1002/emp2.12407>

- Liu, X., Zhou, H., Zhou, Y., Wu, X., Zhao, Y., Lu, Y., Tan, W., Yuan, M., Ding, X., & Zou, J. (2020). Risk Factors Associated with Disease Severity and Length of Hospital Stay in COVID-19 Patients. *Journal of Infection*, 81(1), e95-e97. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.008>
- Lokken, E. M., Huebner, E. M., Taylor, G. G., Hendrickson, S., Vanderhoeven, J., Kachikis, A., Coler, B., Walker, C. L., Sheng, J. S., & Al-Haddad, B. J. (2021). Disease Severity, Pregnancy Outcomes, and Maternal Deaths among Pregnant Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection in Washington State. *American Journal of Obstetrics Gynecology*, 225(1), 77. e71-77. e14. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.12.1221>
- Maharianingsih, N. M., Sudirta, I. K., & Suryaningsih, N. P. A. (2022). Karakteristik Pasien dan Penggunaan Obat Pada Pasien Covid-19 Derajat Sedang-Berat di RSUD Karangasem. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 2(2), 86-94. doi:<https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i2.13958>
- Niu, S., Tian, S., Lou, J., Kang, X., Zhang, L., Lian, H., & Zhang, J. (2020). Clinical Characteristics of Older Patients Infected with COVID-19: A Descriptive Study. *Archives of Gerontology Geriatrics*, 89, 104058. doi:<https://doi.org/10.1016/j.archger.2020.104058>
- Poudel, A., Poudel, Y., Adhikari, A., Aryal, B. B., Dangol, D., Bajracharya, T., Maharjan, A., & Gautam, R. (2021). D-dimer as A Biomarker for Assessment of COVID-19 Prognosis: D-dimer Levels on Admission and its Role in predicting Disease Outcome in Hospitalized Patients with COVID-19. *Plos One*, 16(8), e0256744. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256744>
- Rees, E. M., Nightingale, E. S., Jafari, Y., Waterlow, N. R., Clifford, S., B. Pearson, C. A., Group, C. W., Jombart, T., Procter, S. R., & Knight, G. M. (2020). COVID-19 Length of Hospital Stay: a Systematic Review and Data Synthesis. *BMC Medicine*, 18(270). doi:<https://doi.org/10.1186/s12916-020-01726-3>
- Sanyaolu, A., Okorie, C., Marinkovic, A., Patidar, R., Younis, K., Desai, P., Hosein, Z., Padda, I., Mangat, J., & Altaf, M. (2020). Comorbidity and its Impact on Patients with COVID-19. *SN Comprehensive Clinical Medicine*, 2(8), 1069-1076. doi:<https://doi.org/10.1007/s42399-020-00363-4>
- Surendra, H., Elyazar, I. R. F., Djaafara, B. A., Ekawati, L. L., Saraswati, K., Adrian, V., Oktavia, D., Salama, N., Lina, R. N., & Andrianto, A. (2021). Clinical Characteristics and Mortality Associated with COVID-19 in Jakarta, Indonesia: A Hospital-based Retrospective Cohort Study. *The Lancet Regional Health-Western Pacific*, 9, 100108. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2021.100108>
- Tedja, V. R. (2012). *Hubungan Antara Faktor Individu, Sosio Demografi, Dan Administrasi Dengan Lama Hari Rawat Pasien Rawat Inap Rumah Sakit Pantai Indah Kapuk Tahun 2011*. Skripsi, Universitas Indonesia: Depok.
- Thiruvengadam, G., Lakshmi, M., & Ramanujam, R. (2021). A Study of Factors Affecting the Length of Hospital Stay of COVID-19 Patients by Cox-Proportional Hazard Model in a South Indian Tertiary Care Hospital. *Journal of Primary Care Community Health*, 12, 21501327211000231. doi:<https://doi.org/10.1177/21501327211000231>
- Wang, Z., Ji, J. S., Liu, Y., Liu, R., Zha, Y., Chang, X., Zhang, L., Liu, Q., Zhang, Y., & Zeng, J. (2020). Survival Analysis of Hospital Length of Stay of Novel Coronavirus (COVID-19) Pneumonia Patients in Sichuan, China. *Medrxiv*. doi:<https://doi.org/10.1101/2020.04.07.20057299>
- Wang, Z., Liu, Y., Wei, L., Ji, J. S., Liu, Y., Liu, R., Zha, Y., Chang, X., Zhang, L., & Liu, Q. (2022). What are The Risk Factors of Hospital Length of Stay in The Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19) Patients? A Survival Analysis in Southwest China. *Plos One*, 17(1), e0261216. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261216>

Wu, S., Xue, L., Legido-Quigley, H., Khan, M., Wu, H., Peng, X., Li, X., & Li, P. (2020). Understanding Factors Influencing The Length of Hospital Stay Among Non-severe COVID-19 Patients: A Retrospective Cohort Study in a Fangcang Shelter Hospital. *Plos One*, *15*(10), e0240959. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240959>



Validation and development of UV-Vis spectrophotometer analysis methods for alpha-tocopherol acetate

Validasi dan pengembangan metode analisis spektrofotometer UV-Vis pada alfa tokoferol asetat

Arif Al Iman¹, Winni Nur Auli^{1*}, Sukrasno²

¹ Program Studi Farmasi, Institut Teknologi Sumatera, Lampung, Indonesia

² Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat, Indonesia

*Corresponding author: winni.auli@fa.itera.ac.id

Abstract

Background: The COVID-19 pandemic had caused the consumption of vitamins in the community to increase with the aim of maintaining immunity in the body.

Objective: This study aims to develop an analysis method with a UV-Vis spectrophotometer, which is considered an alternative analysis method that is easier, more practical, and cheaper.

Method: Methods for analyzing alpha-tocopherol acetate are validated through specificity tests, linearity measurements, precision tests, accuracy tests, determination of detection limits, determination of quantitation limits, and determination of range using ethanol p.a solvent and UV-Vis Spectrophotometer instruments. Then, examine the alpha tocopherol acetate content of vitamin E dietary supplements.

Results: The specificity test showed that matrix had no significant effect on the analysis, the linearity test met the requirements with a concentration range of 20–60 µg/mL ($r = 0.9991$), the accuracy test was 99.897–100.315%, intraday and interday precision tests were obtained with %RSD less than 2%, the LOD value was 1.859 µg/mL and the LOQ value was 5.635 µg/mL. The determination of levels of vitamin E in dietary supplements showed levels for brand A of 100.508% and brand B of 100.089%.

Conclusion: The analytical method developed had met the validation requirements, and the levels of vitamin E food supplements had met the USP requirements.

Keywords: method validation, UV-Vis spectrophotometer, alpha tocopherol acetate

Intisari

Latar belakang: Pandemi COVID-19 menyebabkan penggunaan vitamin di masyarakat meningkat dengan tujuan agar imunitas pada tubuh tetap terjaga.

Tujuan: Mengembangkan dan memvalidasi metode analisis vitamin E dengan tujuan uji kualitatif dan kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang dinilai sebagai metode analisis alternatif yang lebih mudah, praktis, dan murah.

Metode: Validasi metode yang dilakukan untuk analisis senyawa alfa tokoferol asetat meliputi uji spesifisitas, pengukuran linieritas, uji presisi, uji akurasi, penentuan limit deteksi, penentuan limit kuantifikasi, dan penentuan rentang menggunakan pelarut etanol p.a. dan alat spektrofotometer UV-Vis. Metode yang telah memenuhi kriteria validasi kemudian digunakan untuk pengecekan kadar kandungan alfa tokoferol asetat dalam suplemen vitamin E.

Hasil: Penelitian ini memberikan hasil yaitu matriks tidak teranalisis pada uji spesifisitas, uji linieritas telah memenuhi syarat dengan rentang konsentrasi 20–60 µg/mL ($r^2 = 0,9991$), uji akurasi 99,897–100,315%, uji presisi *interday* dan *intraday* didapatkan hasil %RSD kurang dari 2%, nilai LOD 1,859 µg/mL dan nilai LOQ 5,635 µg/mL. Penetapan kadar sediaan vitamin E telah memenuhi ketentuan yaitu 100,508% dan 100,089%.

Kesimpulan: Metode yang dikembangkan telah memenuhi ketentuan validitas dan kadar vitamin E pada sampel sesuai dengan ketentuan USP.

Kata kunci: validasi metode, spektrofotometer UV-Vis, alfa tokoferol asetat

1. Pendahuluan

Virus yang menimbulkan gejala seperti pneumonia yang ditemukan China pada tahun 2019 dikenal sebagai sindrom pernapasan akut coronavirus-2 (SARS-CoV-2). Organisasi Kesehatan Dunia

(WHO) telah mengklasifikasikan virus ini menjadi pandemi. Gejala infeksi SARS-CoV-2 menunjukkan dari tanpa gejala hingga berat dengan batuk, demam, dan sesak napas. Dalam kasus yang lebih parah, komplikasi dapat mencakup gangguan akut pada pernapasan, komplikasi akut pada jantung, syok septik, disfungsi organ bahkan kematian. Gejala ini diyakini terkait dengan badai sitokin, dimana replikasi virus memicu pelepasan sitokin yang kuat secara tidak normal dan rangsangan terkait kekebalan lainnya, yang mengakibatkan peradangan berlebih (Iddir *et al.*, 2020). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa konsumsi suplemen memberikan efek penyembuhan pada pasien dengan COVID-19. Suplemen makanan yang direkomendasikan untuk COVID-19 yaitu vitamin D, C, E dan Zn (Shakoor *et al.*, 2021). Vitamin E dianggap sebagai antioksidan kuat yang mampu menahan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan partikel radikal bebas (Jovic *et al.*, 2020).

Vitamin E menghambat aktivitas Protein Kinase C (PKC) dengan meningkatkan defosforilasi PKC- α melalui aktivasi protein fosfatase 2A. Penghambatan PKC oleh vitamin E terjadi pada berbagai sel sehingga menyebabkan penghambatan agregasi trombosit, mengurangi proliferasi monosit; makrofag; neutrophil; dan sel otot polos vaskular, dan penurunan produksi superoksida pada neutrofil maupun makrofag. Hal tersebut menyebabkan imunitas pada tubuh dapat lebih stabil (Lee & Han, 2018). Vitamin E adalah istilah senyawa untuk empat struktur tokoferol (α -, β -, γ -, dan δ -tokoferol) dan empat struktur tocotrienol (α -, β -, γ -, dan δ -tocotrienol) yang ditemukan dalam makanan. Bentuk-bentuk ini memiliki aktivitas antioksidan, tetapi tidak dapat dikonversi, hanya α -tokoferol yang memenuhi kebutuhan vitamin E manusia. Tokoferol memiliki cincin kromanol dan ekor fitil, sedangkan tokotrienol memiliki cincin kromanol dan ekor tak jenuh. Bentuk α -, β -, γ -, dan δ - berbeda dalam jumlah dan posisi gugus metil pada struktur kromanol. Tokoferol alami hanya memiliki stereokimia RRR, tetapi tokoferol sintetis adalah campuran dari delapan stereoisomer (RRR-, RSR-, RRS-, RSS-, SRR-, SSR-, SRS-, SSS-), karena ada tiga atom karbon asimetris (2R, 4'R, 8'R) yang ada di ekor fitil (Traber, 2007). Struktur ester alfa tokoferol memiliki sifat yang lebih stabil dari oksidasi dibandingkan bentuk aktif alfa tokoferol (Sunaric *et al.*, 2017).

Metode standar analisis senyawa vitamin E yang telah ditetapkan adalah menggunakan kromatografi gas (Kemenkes RI, 2020). Beberapa metode analisis lain yang telah dikembangkan yaitu menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Fithriyah, 2013), dan spektrofotometri (Irawati, 2011). Metode yang telah disebutkan memiliki keterbatasan seperti larutan standar tertinggal di injektor, kolom mudah tertutup kotoran, kemurnian larutan tinggi, biaya tinggi, peralatan rumit dan perawatan sulit (Prabowo *et al.*, 2012). Analisis menggunakan spektrofotometri UV-Visible juga sudah banyak berkembang dengan pemanfaatan berbagai reaksi kimiawi kompleks dan penggunaan pelarut yang toksik. Oleh sebab itu, diperlukan metode yang lebih

cepat, mudah, murah, dan lebih ramah lingkungan yang dapat menganalisis banyak zat organik dan anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1-3%. Metode yang dapat dikembangkan adalah spektrofotometer Ultra Violet – *Visible* (UV-Vis). Pada beberapa penelitian sebelumnya, senyawa yang digunakan adalah α -tokoferol. Sedangkan pada penelitian ini dilakukan untuk menentukan uji kualitatif dan kuantitatif pada α -tokoferol asetat sebagai bentuk ester dari α -tokoferol. Sediaan vitamin saat ini sudah banyak yang menggunakan bentuk ester dibandingkan senyawa α -tokoferol karena alasan stabilitas yang lebih baik. Pengembangan metode dilakukan menggunakan pelarut yang lebih tidak toksik yaitu etanol. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda (Harborne, 1987). Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi VI menyebutkan bahwa bentuk vitamin E lain (α -tokoferol asetat) larut dalam etanol dengan makna 10-30 mL pelarut yang diperlukan untuk melarutkan 1 gram zat vitamin E (α -tokoferol asetat) (Kemenkes RI, 2020).

Validasi metode merupakan kegiatan yang bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa metode yang dilakukan untuk suatu uji tertentu telah sesuai dengan melihat parameter-parameter yang telah ditetapkan. Parameter yang dapat digunakan untuk pengembangan metode analisis yaitu rentang (*range*), akurasi (*accuracy*), presisi (*precision*), linieritas (*linearity*), batas kuantitasi (LOQ), batas deteksi (LOD), dan spesifisitas (*specificity*) (ICH, 2021; Harmita, 2004). Penelitian ini dilakukan untuk melakukan validasi metode analisis vitamin E baik secara kualitatif maupun kuantitatif menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.

2. Metode

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa *Ultrasonic cleaner* (Elmasonic S180H), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific), pipet mikro, pipet volume, neraca analitik spatula, gelas Beaker, dan labu volume.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah standar Alfa tokoferol asetat (DSM Nutritional Products, Netherland), etanol p.a (*Merck*[®], Germany), suplemen makanan vitamin E, dan matriks buatan (sorbitol dan *apple essence*) yang berasal dari komposisi salah satu sampel yang akan dianalisis.

2.3 Sampel

Sampel yang diuji berupa dua merek vitamin E pasaran yang mengandung zat aktif alfa tokoferol asetat.

2.4 Pengembangan dan validasi metode analisis

2.4.1 Penentuan spesifisitas

Penentuan spesifisitas dilaksanakan dengan mempertimbangkan spektrum larutan standar, larutan sampel dan matriks buatan dengan jumlah yang sama yaitu 40µg/mL. Matriks buatan diperoleh dari komposisi yang tertera pada kemasan salah satu sampel yang mencantumkan sorbitol dan *apple essence*. Pengujian dilakukan dengan pengecekan spektrum larutan-larutan yang telah dibuat di spektrofotometer UV-Vis untuk diamati spektrum UV yang terbentuk.

2.4.2 Preparasi larutan standar alfa tokoferol asetat

Sejumlah 100mg alfa-tokoferol asetat ditimbang ke dalam labu ukur 100mL dan ditambahkan dengan etanol pro analisis sampai tanda batas kemudian dihomogenkan. Didapatkan larutan stok standar sebanyak 1mg/mL (1000µg/mL = 1000ppm).

2.4.3 Penentuan panjang gelombang maksimal

Standar dibuat dengan konsentrasi 100 µg/mL dengan cara memipet 1 mL stok standar dan ditambahkan 10 mL etanol p.a, kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum yang terlihat pada spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 200-400 nm.

2.4.4 Penentuan kurva kalibrasi dan pengujian linearitas

Larutan stok standar diencerkan dengan seri konsentrasi 20, 30, 40, 50, dan 60 µg/mL, kemudian dilakukan pengecekan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil yang diperoleh selanjutnya dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan persamaan garis regresi linier ($y=a+bx$) dan menghitung nilai r dari persamaan garis linier.

2.4.5 Pengujian akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan konsentrasi dari metode yang diusulkan pada tiga tingkat konsentrasi yang berbeda yaitu 80, 100, dan 120 %. Perhitungan dilakukan pada setiap tingkat konsentrasi awal dan akhir larutan standar dan % *recovery*. Uji akurasi menggunakan metode *Certified Reference Material* (CRM). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni (senyawa pembanding kimia CRM atau SRM) dianalisis kadar yang sebenarnya berdasarkan absorbansi yang diperoleh (Harmita, 2004). Berikut ini adalah rumus perhitungannya:

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Konsentrasi Uji}}{\text{Konsentrasi Teori}} \times 100\%$$

2.4.6 Pengujian presisi

Untuk menentukan ketepatan metode ini, standar alfa-tokoferol asetat diperiksa pada hari yang sama (*intraday*) dan pada hari yang berbeda (*interday*) selama tiga hari untuk melihat besar absorbansi yang dihasilkan. Semua kegiatan dilakukan dalam replikasi sebanyak tiga pada standar alfa-tokoferol asetat. Hasil yang diperoleh kemudian dihitung nilai %RSD. Berikut ini adalah rumus perhitungannya:

$$\%RSD = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan:

S = *Standard Deviation*

\bar{x} = Rata-Rata

2.4.7 Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas nilai kuantifikasi (LOQ)

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier $y = a + bx$, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x) (Harmita,2004). Berikut adalah rumus perhitungan LOD dan LOQ:

$$LOD = \frac{3,3 \times \left(\frac{Sy}{x}\right)}{b} \quad LOQ = \frac{10 \times \left(\frac{Sy}{x}\right)}{b}$$

Keterangan:

Sy/x = *Residual standard deviation*

b = *slope*

2.4.8 Penentuan rentang

Batas terendah dan tertinggi ditentukan dengan menghitung konsentrasi analit yang memenuhi persyaratan presisi, akurasi, dan linearitas.

2.4.9 Analisis kadar suplemen vitamin E

Sejumlah suplemen vitamin E berbentuk kapsul (sebanyak sepuluh kapsul), tiap merek A dan B, dilakukan uji keseragaman bobot sediaan. Kemudian bobot isi per kapsul dihitung. Sediaan A dilarutkan dengan 100mL etanol p.a sehingga diperoleh larutan stok sampel A kemudian diencerkan 20x. Sediaan merek B dilarutkan dengan 100 mL etanol p.a hingga diperoleh larutan stok sampel B kemudian diencerkan 40x (USP, 2018).

3. Hasil dan pembahasan

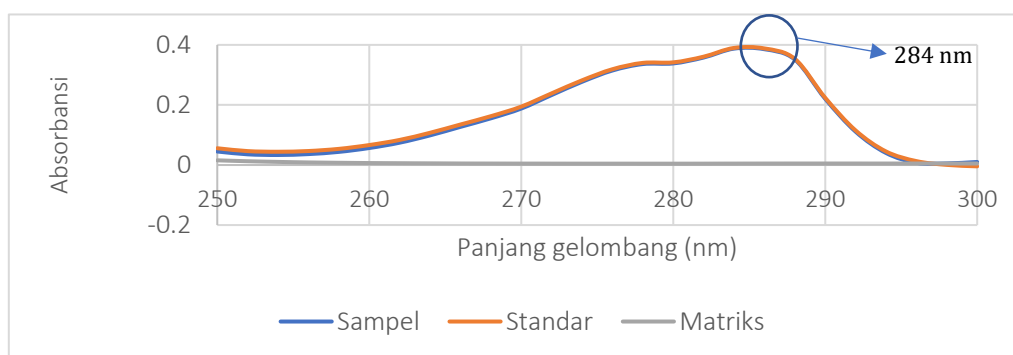
3.1 Pengembangan dan optimasi metode spektrofotometer UV-Vis

Pengembangan metode analisis alfa tokoferol asetat dengan menggunakan pelarut etanol p.a dilakukan dengan penentuan panjang gelombang maksimum alfa tokoferol asetat dengan pelarut

tersebut menggunakan *scanning method* pada rentang panjang gelombang 200 – 400 nm. Didapatkan panjang gelombang maksimum sesuai dengan pustaka yaitu 284 nm (Ng & May, 2012).

3.2 Uji spesifisitas

Pada pengujian spesifisitas, perlu dilibatkan demonstrasi penentuan zat aktif dengan eksipien. Hal ini dilakukan untuk menunjukkan bahwa hasil pengujian tidak terpengaruh oleh keberadaan bahan eksipien tersebut (ICH, 2021). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat terlihat bahwa matriks buatan dan matriks pada sediaan sampel di pasaran tidak berpengaruh signifikan terhadap pembacaan alfa tokoferol asetat pada konsentrasi yang sama (Gambar 1).

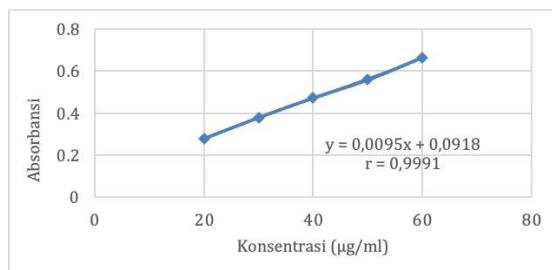


Gambar 1. Spektrum UV sampel, standar, dan matriks

3.3 Uji linieritas

Pengujian linieritas dilakukan dengan menggunakan lima seri konsentrasi sehingga diperoleh konsentrasi berkisar dari 20-60 $\mu\text{g/mL}$ untuk alfa tokoferol asetat standar sehingga didapatkan hasil berupa terdapat pengaruh besarnya konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi yang dihasilkan. Persamaan regresi linier yang didapatkan adalah $y = 0,0095x + 0,0918$ (Gambar 2) dengan koefisien korelasi 0,9991 dan nilai V_{x0} sebesar 1,408% dengan syarat linieritas yaitu $r > 0,999$ (Harmita, 2004).

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi rata-rata \pm SD
60	0,665 \pm 0,002
50	0,559 \pm 0,0003
40	0,473 \pm 0,0005
30	0,380 \pm 0,001
20	0,280 \pm 0,0003



Gambar 2. Kurva linieritas larutan standar alfa tokoferol asetat

3.4 Uji presisi

3.4.1 Uji presisi intraday

Penentuan presisi *intraday* alfa tokoferol asetat standar dengan metode spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan konsentrasi yang sama dengan enam kali replikasi. Pengujian presisi bertujuan untuk menunjukkan ketelitian metode yang sedang dilakukan. Hasil perhitungan % RSD alfa tokoferol asetat dengan konsentrasi setara 40 µg/mL yaitu 0,310% (Tabel 2) dengan batas penerimaan %RSD adalah <2%.

Tabel 2. Uji presisi *intraday*

Konsentrasi	Absorbansi	Rata-rata absorbansi ± SD	RSD (%)
40 µg/mL	0,475	0,473 ± 0,001	0,310
	0,474		
	0,473		
	0,473		
	0,472		
	0,476		

3.4.2 Presisi interday

Penentuan presisi *interday* alfa tokoferol asetat standar dilaksanakan selama 3 hari dengan konsentrasi yang sama. Perhitungan presisi *interday* diperoleh RSD sebesar 0,122% (Tabel 3) dengan batas penerimaan % RSD adalah <2% (Harmita, 2004).

Tabel 3. Uji presisi *interday*

Hari ke-	Rata-rata absorbansi ± SD
1	0,473 ± 0,001
2	0,472 ± 0,001
3	0,473 ± 0,001
RSD (%)	0,122

3.5 Uji akurasi

Metode akurasi dilakukan dengan melakukan pengukuran pada standar alfa tokoferol asetat dengan tiga tingkat konsentrasi. Kuantitas standar setara dengan 32, 40, dan 48 µg/mL. Hasil uji

akurasi yang diperoleh sebesar 99,956, 100,315, dan 99,897% (Tabel 4) dengan batas penerimaan %*recovery* adalah 98%-102% (Harmita, 2004).

Tabel 4. Uji akurasi

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	% <i>recovery</i>	Rata-rata % <i>recovery</i>
32	0,398	100,723	99,956
	0,394	99,407	
	0,395	99,736	
40	0,473	100,315	100,315
	0,472	100,052	
	0,474	100,578	
48	0,550	100,482	99,897
	0,548	100,043	
	0,544	99,167	

3.6 Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ)

Nilai batas deteksi diperoleh hasil sebesar 1,859 µg/mL yang memiliki arti bahwa konsentrasi atau jumlah minimal analit dalam sampel yang masih menunjukkan nilai absorbansi pada instrumen tanpa harus memenuhi kriteria akurasi dan presisi adalah 1,859 µg/mL. Penetapan nilai batas kuantifikasi memberikan hasil sebesar 5,635 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi atau jumlah minimal analit dalam sampel yang masih dapat diukur secara akurat oleh alat adalah 5,635 µg/mL.

3.7 Penentuan rentang

Rentang konsentrasi yang memenuhi ketentuan presisi, akurasi, dan linieritas adalah berkisar 20-60 µg/mL.

3.8 Penetapan kadar suplemen vitamin E

Menurut *United States Pharmacopeia* (USP) rentang kadar vitamin E pada sediaan kapsul adalah 95-120% sehingga berdasarkan hasil yang diperoleh telah memenuhi persyaratan (USP, 2018).

Tabel 5. Uji kadar alfa tokoferol asetat pada sediaan

Merek	Klaim Label (IU)	Absorbansi	Rataan absorbansi ± SD	Rataan konsentrasi ± SD (µg/ml)	Kadar* (IU)	Kadar (%)
A	100	0,411	0,411 ± 0,003	33,529 ± 0,386	100,508	100,508
		0,410				
		0,418				
		0,413				
		0,409				
		0,409				
B	200	0,408	0,410 ± 0,003	33,670 ± 0,362	200,178	100,089

Merek	Klaim Label (IU)	Absorbansi	Rataan absorbansi \pm SD	Rataan konsentrasi \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar* (IU)	Kadar (%)
		0,407				
		0,411				
		0,417				
		0,408				
		0,411				

*1 IU vitamin E setara dengan 0,67 mg (FDA, 2016)

4. Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil yang telah diperoleh adalah metode analisis alfa tokoferol asetat dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis telah memenuhi persyaratan validitas yang terdiri dari spesifisitas, linieritas, presisi, akurasi, LOD, LOQ dan rentang. Untuk penetapan kadar suplemen vitamin E telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan USP.

Daftar Pustaka

- FDA. (2016). Guidance for Industry: Converting Units of Measure for Folate, Niacin, and Vitamins A, D, and E on the Nutrition and Supplement Facts Labels. Retrieved from <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-converting-units-measure-folate-niacin-and-vitamins-d-and-e-nutrition-and>
- Fithriyah, N. (2013). *Analisis α -Tokoferol (Vitamin E) pada Minyak Biji Kelor (Moringa Oleifera Lam.) secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Skripsi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta: Jakarta.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Vol. 78). Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita, H. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117-135. doi:<http://doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375>
- ICH. (2021). Validation of Analytical Procedures Q2(R2). *European Medicines Agency*. Retrieved from <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b-en.pdf>
- Iddir, M., Brito, A., Dingo, G., Del Campo, S. S., Samouda, H., La Frano, M. R., & Bohn, T. (2020). Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients*, 12(6). doi:<https://doi.org/10.3390/nu12061562>
- Irawati, L. (2011). Validasi Metode Spektrofluorometri untuk Penentuan Alfa Tokoferol dalam Minyak Jagung. *Politeknik Negeri Ujung pandang, Makassar*.
- Jovic, T. H., Ali, S. R., Ibrahim, N., Jessop, Z. M., Tarassoli, S. P., Dobbs, T. D., Holford, P., Thornton, C. A., & Whitaker, I. S. (2020). Could vitamins help in the fight against COVID-19? *Nutrients*, 12(9), 2550. doi:<https://doi.org/10.3390/nu12092550>
- Kemenkes_RI. (2020). *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Lee, G. Y., & Han, S. N. (2018). The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients*, 10. doi:<https://doi.org/10.3390/nu10111614>.
- Ng, M. H., & May, C. Y. (2012). Analisis Kromatografi Tokoferol dan Tokotrienol dalam Minyak Kelapa Sawit. *Jurnal Ilmu Kromatografi* 50(3), 283-286. doi:<https://doi.org/10.1093/chromsci/bms002>

- Prabowo, M. H., Wibowo, A., & Fauziah, L. (2012). Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Rifampicin Isoniazid-pirazinamid dalam Fixed Dose Combination dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(2). doi:<https://doi.org/10.20885/jif.vol9.iss2.art4>
- Shakoor, H., Feehan, J., Al Dhaheri, A. S., Ali, H. I., Platat, C., Ismail, L. C., Apostolopoulos, V., & Stojanovska, L. (2021). Immune-boosting Role of Vitamins D, C, E, zinc, Selenium and Omega-3 Fatty Acids: Could They Help Against COVID-19? *Maturitas*, 143, 1-9. doi:<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2020.08.003>
- Sunaric, S., Lalic, j., & Spasic, A. (2017). Simultaneous Determination of Alpha-Tocopherol and Alpha-Tocopheryl Acetate in Dairy Products, Plant Milks and Health Supplements by Using SPE and HPLC Method. *Food Analytical Methods*, 10, 1-16. doi:<https://doi.org/10.1007/s12161-017-0943-x>
- Traber, M. G. (2007). Vitamin E Regulatory Mechanisms. *Annu. Rev. Nutrients*, 27, 347-362.
- USP. (2018). The United States Pharmacopeia 44 - NF 36. U.S. *Pharmacopeial Convention Inc*, Rockville, p.6459-6460.