



UNIVERSITAS
ISLAM
INDONESIA

P-ISSN-1693-8666

E-ISSN-2657-1420



Jurnal Ilmiah Farmasi

Scientific Journal of Pharmacy

Vol 20-1st edition
January - July 2024

Page 1 - 168

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

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.
apt. Suci Hanifah, M.Si., Ph.D.	Dr. apt. Diesty Anita Nugraheni, M.Sc.
Dr. apt. Purwanto	Dr. Indriyati Hadi Sulistyaningrum, 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. apt. Farida Hayati, M.Si.	Dr. apt. Aris Perdana Kusuma, M.Sc.
Dr. Eka Indra Setiawan	Dr. Tatang Shabur Julianto
apt. Arde Toga Nugraha, M.Sc.	Dr. Noor Fitri
Dr. Lanny Hartanti	Dr. apt. Seftika Sari, M.P.H.
Dr. apt. Dimas Adhi Pradana, M.Sc.	Dr. apt. Lannie Hadisoewignyo
Prof. Dr. apt. T. N. Saifullah	Ibrahim Dankane Bafarawa, B.Sc., M.Sc.
Dr. apt. Hari Purnomo	apt. Halida Rahmania, M.Sc., PhD

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
The formula development and antioxidant activity of peel-off gel mask from ethyl acetate fraction of bay leaf (<i>Zyzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.)	1-14
Marie Eksanti Lukita, Crescentiana Emy Dhurhanian, Disa Andriani	
Antioxidant activity of the ethyl acetate fraction of the seed of kesumba (<i>Bixa orellana</i> L.), ethyl-acetate of the turmeric fraction (<i>Curcuma longa</i> L.), and its combination	15-30
Asniati Asniati, Winda Rahmalia, Endah Sayekti	
<i>Begonia medicinalis</i> : a review of phytochemistry and pharmacology	31-42
Levana Velincia Tanriono, Farida Hayati, Muhammad Sulaiman Zubair	
Anticancer chemotherapies targeting Wnt/ β -catenin signaling pathway: a review on molecular insights	43-62
Thi-Quynh-Huong Nguyen, Thi-Kieu-Trinh Tran, Vu-Quynh-Nhu Nguyen, Thuy-Loc Pham, Thi-Thuy Nguyen, Thi-Kieu-Diem Ngo, Thi-Tram Vu, Thi-Phuong-Thao Pham, Hai-Anh Ha	
Pharmacological and molecular mechanism of <i>Syzygium polyanthum</i> leaves as antihypertensive with network pharmacology approach	63-79
Prisnu Tirtanirmala, Abdul Mun'im, Firdayani	
Physical stability and antibacterial effectiveness of erythromycin pulveres against <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> bacteria	80-89
Mutiara Herawati, Oktavia Indrati, Fitra Romadonsyah, Tri Esti Purbaningtiyas, Sekti Kartika Dini, Yusi Rahmadani, Wahidatun Mardhatillah	
Antidepressant use in pregnancy and the risk of neonatal outcomes: a scoping review	90-102
Yosi Febrianti	
Optimization of hand sanitizer gel formula from lime leaf essential oil (<i>Citrus aurantifolia</i>) with variations of CMC-Na and glycerin using factorial design	103-117
Agatha Budi Susiana Lestari, Elisabet Winarti	
Cost-effectiveness comparison of antidiabetic drugs combination therapy metformin-glimepiride and acarbose-glimepiride	118-128
Nden Ajeng Tresnawati, Hany Yusmaini, Mila Citrawati, Erna Harfiani	
The effect of counseling on perception, religiosity, adherence, and quality of life of diabetes mellitus patients	129-138
Bella Fevi Aristia, Akrom, Ginandjar Zukhruf Saputri, Mustofa	
Knowledge and attitude improvement of teenagers through education on hazardous ingredients in cosmetics in Kalimantan, Morangan, Sleman	139-155
Purwanto, Umu Azizah Munawaroh, Rahma Nur Aini, Amelia Handayani Burhan, Iramie Duma Kencana Irianto	
Antibacterial and antifungal activities of extract and fractions of pandan wangi (<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb) leaves	156-168
Riyan Setiyanto, Iin Suhesti, Annisa Dwi Utami	



Copyright © 2024 by Authors. Licensee Universitas Islam Indonesia. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.

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. 20 No. 1 of 2024** can be published. This issue contains twelve articles, six on the Pharmaceutical Science topic and six 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 vitro* and *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 or omissions in the publication of this issue.

Yogyakarta, July 2024
Editor in Chief



The formula development and antioxidant activity of peel-off gel mask from ethyl acetate fraction of bay leaf (*Zyzygium polyanthum* (Wight.) Walp.)

Pengembangan formula dan aktivitas antioksidan masker gel *peel-off* dari fraksi etil asetat daun salam (*Zyzygium polyanthum* (Wight.) Walp.)

Marie Eksanti Lukita, Crescentiana Emy Dhurhanian*, Disa Andriani

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Sukoharjo, Jawa Tengah, Indonesia

*Corresponding author: dhurhanian@stikesnas.ac.id

Abstract

Background: The ethyl acetate fraction of bay leaf contains flavonoids, alkaloids, and tannins. It has the strongest antioxidant activity compared to the n-hexane fraction and aqueous fraction. Antioxidants play a critical role in maintaining skin health, particularly facial skin, by preventing damage from oxidative stress. One of the topical preparations that are considered very practical and effective in facial skin care is a peel-off gel mask.

Objective: The aim of the study is to determine the concentration of the ethyl acetate fraction of bay leaf (*Zyzygium polyanthum* (Wight.) Walp.), which is capable of producing a peel-off gel mask with good physical characteristics and the strongest antioxidant activity.

Methods: Extraction was carried out by maceration and fractionation with liquid-liquid partitions to obtain the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction. The ethyl acetate fraction of bay leaf was used to make peel-off gel masks with various concentrations of 0.5, 1, and 1.5%, then tested for physical characteristics and antioxidant activity using the ABTS method.

Results: All of the peel-off gel mask formula that used different concentrations of bay leaf ethyl acetate fraction met the standards for excellent physical properties, such as organoleptic, pH, spreadability, adhesion, viscosity, folding resistance, and drying time. The peel-off gel mask with a 1.5% bay leaf ethyl acetate fraction exhibited the most effective antioxidant activity, with an IC_{50} value of 46.6954 ppm, compared to an IC_{50} value of 17.5809 ppm for quercetin.

Conclusion: At a concentration of 1.5%, the ethyl acetate fraction of bay leaf was able to produce a peel-off gel mask with good physical characteristics, accompanied by antioxidant activity in the very strong category.

Keywords : Bay leaf, peel-off gel mask, antioxidant

Intisari

Latar Belakang: Fraksi etil asetat daun salam mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin, dengan aktivitas antioksidan yang paling kuat daripada fraksi n-heksan dan fraksi airnya. Kandungan antioksidan sangat penting untuk menjaga kesehatan kulit, termasuk kulit wajah, sehingga mampu menghambat terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif. Salah satu sediaan topikal yang dinilai sangat praktis dan efektif dalam perawatan kulit wajah adalah masker gel *peel-off*.

Tujuan: Untuk mengetahui konsentrasi fraksi etil asetat daun salam (*Zyzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) yang mampu menghasilkan masker gel *peel-off* dengan karakteristik fisik yang baik disertai dengan aktivitas antioksidan yang paling kuat.

Metode: Ekstraksi dilakukan secara maserasi, dilanjutkan fraksinasi dengan teknik partisi cair-cair hingga diperoleh fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Fraksi etil asetat daun salam digunakan untuk membuat masker gel *peel-off* dengan variasi konsentrasi 0,5, 1, dan 1,5%, kemudian dilakukan uji karakteristik fisik dan aktivitas antioksidan dengan metode ABTS.

Hasil: Seluruh formula masker gel *peel-off* dengan berbagai variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun salam mampu memenuhi persyaratan karakteristik fisik yang baik, meliputi organoleptis, pH, daya sebar, daya lekat, viskositas, ketahanan lipat, dan waktu mengering. Aktivitas antioksidan yang paling efektif diperoleh pada masker gel *peel-off* dengan fraksi etil asetat daun salam sebesar 1,5% dengan nilai IC_{50} 46,6954 ppm dan kuersetin sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} 17,5809 ppm.

Kesimpulan: Fraksi etil asetat daun salam pada konsentrasi 1,5% mampu menghasilkan masker gel *peel-off* dengan karakteristik fisik yang baik disertai dengan aktivitas antioksidan pada kategori sangat kuat.

Kata Kunci : Daun salam, masker gel *peel-off*, antioksidan

1. Pendahuluan

Masalah yang terlihat pada kulit wajah seringkali disebabkan oleh adanya radikal bebas seperti polusi udara, polutan, asap rokok dan paparan radiasi ultraviolet (UV) yang dapat menyebabkan kulit wajah tampak seperti keriput, munculnya tanda-tanda penuaan, jerawat dan pori-pori kulit yang membesar (Mahajan *et al.*, 2024). Saat ini banyak upaya yang dilakukan oleh para ahli kecantikan untuk menggabungkan alat-alat modern dengan penggunaan bahan aktif dari alam untuk dikembangkan menjadi sediaan perawatan wajah (Solin, 2019).

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk melindungi wajah dari paparan radikal bebas adalah antioksidan. Antioksidan adalah zat dengan struktur molekul yang dapat dengan mudah menyumbangkan elektronnya ke molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan mengganggu reaksi berantai radikal bebas. Dengan demikian antioksidan mampu menghambat atau mencegah reaksi oksidasi pada substrat oksidatif (Puspitasari *et al.*, 2016). Sumber antioksidan dapat ditemukan secara sintesis dan alami, secara sintesis berupa Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ). Bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid) merupakan contoh antioksidan alami (Parwata, 2016).

Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan adalah daun salam yang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tannin (Agustina *et al.*, 2016). Hasil penelitian Yandra (2017) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan (IC_{50}) ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) sebesar 54,2200 ppm, fraksi n-heksan sebesar 66,3400 ppm, fraksi etil asetat sebesar 41,5400 ppm, dan fraksi air sebesar 77,5900 dengan metode DPPH. Penelitian Susilowati & Wulandari (2019) menyatakan bahwa fraksi etil asetat daun salam memiliki IC_{50} sebesar 47,7709 ppm dan fraksi air sebesar 52,3957 ppm menggunakan metode DPPH. Dengan demikian fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Sediaan antioksidan untuk wajah memiliki peranan yang penting untuk menjaga kesehatan kulit wajah. Penggunaan sediaan antioksidan secara topikal memberikan efek yang maksimal jika dibandingkan dengan penggunaan secara oral, hal ini dikarenakan zat aktif akan berinteraksi lebih lama dengan kulit wajah. Salah satu sediaan topikal yang dapat digunakan untuk wajah adalah sediaan masker. Masker wajah merupakan salah satu sediaan topikal yang dinilai sangat praktis dan efektif dalam hal penggunaannya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi fraksi etil asetat daun salam (*Zyzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) yang mampu menghasilkan masker gel *peel-off* dengan karakteristik fisik yang baik disertai dengan aktivitas antioksidan yang paling kuat.

2. Metode

2.1 Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-1280), timbangan analitik (Ohaus,PX85 0,00001g max 82g), *rotary evaporator* (IKA RV 10 digital V), corong pisah, mortar, dan stamper.

Bahan yang digunakan antara lain daun salam yang dipanen pada sore hari, etanol 96% (Medika), kuersetin (Sigma®), ABTS (Sigma), PVA (Merck ®), HPMC (Merck®), propilenglikol (Wilmar®), metilparaben (Wilmar®), propilparaben (Merck®), n-Heksan (Merck), etil asetat (Merck).

2.2 Preparasi ekstrak daun salam

Daun salam yang telah dikumpulkan disortasi kemudian dilakukan pencucian, perajangan, dan pengeringan pada oven suhu 40°C, selanjutnya diblender. Serbuk simplisia daun salam dimaserasi dengan etanol 96% 1:7,5 selama 3 hari, sambil dilakukan pengadukan setiap harinya. Filtrat yang diperoleh kemudian ditampung dan ampasnya diremaserasi dengan etanol 1:2,5 selama 2 hari. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, kemudian dilanjutkan dengan *waterbath* pada suhu yang sama sampai diperoleh ekstrak kental.

2.3 Preparasi fraksi etil asetat daun salam

Ekstrak kental dilarutkan dalam akuades hangat (1:2) kemudian difraksinasi dengan n-heksan dengan perbandingan 1:1 menggunakan corong pisah. Fraksinasi dengan n-heksan dilakukan pengulangan hingga bening. Fraksi air yang tertinggal di dalam corong pisah difraksinasi dengan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Fraksinasi dengan etil asetat dilakukan pengulangan hingga bening. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, kemudian dilanjutkan dengan *waterbath* hingga pekat yang kemudian disebut sebagai fraksi etil asetat.

2.4 Skrining fitokimia

2.4.1 Flavonoid

Fraksi etil asetat 0,1 g ditambah 0,1g serbuk Mg ditambah 5 tetes HCl pekat. Jika positif berwarna merah hingga merah lembayung (Hanani, 2015).

2.4.2 Alkaloid

Fraksi etil asetat 0,1 g ditambah HCl 2N ditambah pereaksi Dragendorf. Jika positif berwarna merah atau jingga (Susilowati & Wulandari, 2019).

2.4.3 Tannin

Fraksi etil asetat 0,1 g ditambahkan 10 ml aquadest hangat, lalu ditambahkan 5 tetes NaCl dan ditambahkan 3 tetes FeCl₃. Jika positif berwarna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Susilowati & Wulandari, 2019).

2.5 Formulasi masker gel peel-off

Formulasi masker gel *peel-off* ini mengacu pada Ratnasari & Kasasiah (2018) dan Priani *et al.* (2015) yang dimodifikasi oleh peneliti seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi masker gel *peel-off* fraksi etil asetat daun salam

Bahan	Konsentrasi (% b/v)		
	FI	FII	FIII
Fraksi etil asetat daun salam	0,5	1	1,5
PVA	12	12	12
HPMC	1	1	1
Propilenglikol	15	15	15
Metilparaben	0,2	0,2	0,2
Propilparaben	0,1	0,1	0,1
Akuades	<i>ad 100</i>	<i>ad 100</i>	<i>ad 100</i>

2.6 Pembuatan masker gel peel-off fraksi etil asetat daun salam

Fraksi etil asetat dilarutkan ke dalam sebagian propilenglikol, sedangkan PVA dikembangkan dalam akuades panas di atas *waterbath* hingga mengembang sempurna. HPMC dikembangkan dengan akuades panas ($\pm 80^{\circ}\text{C}$) sebanyak 30 mL dengan pengadukan yang konstan hingga mengembang (Setyaningrum, 2013). Metil dan propil paraben dilarutkan dalam propilenglikol. HPMC dan PVA dicampur hingga homogen kemudian ditambahkan metil dan propil paraben dan diaduk kembali hingga homogen. Setelah itu ditambahkan fraksi etil asetat dan diaduk kembali hingga homogen (Ratnasari & Kasasiah, 2018).

2.7 Evaluasi fisik sediaan masker gel peel-off

2.7.1 Uji organoleptis

Pada uji organoleptis dilakukan pengamatan tekstur, warna, bau, dan homogenitas sediaan (Cahyani & Putri, 2017).

2.7.2 Uji pH

Sebanyak 500 mg sediaan dilarutkan dalam 50 mL akuades dan diuji dengan alat pH meter. Syarat pH sediaan 4,5-6,5 (Froelich *et al.*, 2017).

2.7.3 Uji daya sebar

Sampel 500 mg diletakkan pada kaca, kemudian ditambah beban 50, 100, dan 150 g didiamkan 1 menit dan diukur diameternya. Rentang persyaratan daya sebar yang baik 5-7cm (Cahyani & Putri, 2017).

2.7.4 Uji daya lekat

Sampel 200 mg dilektakkan pada *object glass* dan ditutup dengan *object glass* lain, kemudian ditindih dengan beban 1 kg selama 5 menit. Setelah itu, beban diambil dan dilakukan pengukuran terhadap waktu yang diperlukan hingga kedua *object glass* saling terlepas. Syarat daya lekat yang baik tidak kurang dari 4 detik (Cahyani & Putri, 2017).

2.7.5 Uji viskositas

Uji viskositas dilakukan menggunakan alat viskometer Rion VT-04 menggunakan rotor nomor 2, kemudian dilihat hasilnya pada spindel. Rentang persyaratan viskositas yang baik 50-1000 dPa.s (Nurahmanto *et al.*, 2017).

2.7.6 Uji ketahanan lipat

Uji ketahanan lipat dengan cara melipat lapisan berkali-kali pada tempat yang sama hingga robek/patah.

2.7.7 Uji waktu mengering

Sampel 500 mg dioleskan pada lengan seseorang dengan diameter 5x5 cm, kemudian dihitung kecepatan mengering sediaan. Waktu mengering sediaan yang baik berkisar 15-30 menit (Beringhs *et al.*, 2013).

2.8 Pengujian aktivitas antioksidan

2.8.1 Pembuatan larutan ABTS

Sebanyak 18,0 mg ABTS dilarutkan kedalam akuades dalam labu ukur 5,0 mL. Kalium persulfat 14,0 mg ditimbang seksama dan dilarutkan dalam akuades 20,0 mL.

2.8.2 Pembuatan larutan radikal ABTS

Larutan ABTS 5,0 mL ditambahkan 5,0 mL larutan kalium persulfat, diinkubasi pada ruang gelap dengan suhu 22-24 °C selama 12-16 jam.

2.8.3 Pembuatan larutan kontrol ABTS

Larutan PBS pH 7,4 dipipet sebanyak 0,5 mL ditambahkan dengan 2 mL larutan radikal ABTS, kemudian diinkubasi selama 6 menit.

2.8.4 Pembuatan larutan kuersetin

Larutan induk 1000 ppm dibuat dengan ditimbang 10 mg kuersetin dilarutkan dalam etanol p.a dalam labu ukur 10,0 mL. Larutan induk dipipet 1,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm.

2.8.5 *Penentuan operating time*

Larutan kuersetin dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian ditambah 2,0 ml larutan radikal ABTS dan diukur pada panjang gelombang literatur 734 nm (Pulungan, 2018).

2.8.6 *Penentuan panjang gelombang maksimal*

Larutan radikal ABTS dipipet 1,0 mL dicukupkan volumenya dengan PBS pH 7,4 dalam labu ukur 25,0 mL. Absorbansi diukur pada rentang panjang gelombang 700-750 nm (Pulungan, 2018).

2.8.7 *Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dengan ABTS*

Larutan kuersetin dibuat seri konsentrasi 5; 10; 15; 20; dan 25 ppm. Tiap-tiap seri konsentrasi dipipet sebanyak 0,5 mL ditambah 2,0 mL larutan radikal ABTS, diinkubasi selama *operating time* dan diukur pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh (Pulungan, 2018).

2.8.8 *Pengujian aktivitas antioksidan sediaan masker gel peel-off*

Masker gel *peel-off* ditimbang 10,0 mg kemudian dilarutkan dalam etanol dan dicukupkan volumenya sampai 10,0 mL. Larutan dipipet 1,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol hingga 10,0 mL sehingga diperoleh kadar 100 ppm. Larutan uji dibuat seri konsentrasi 30; 40; 50; 60; dan 70 ppm. Tiap seri konsentrasi dipipet 0,5 mL lalu ditambah 2,0 mL larutan radikal ABTS, diinkubasi selama *operating time* dan diukur pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh (Pulungan, 2018).

$$\text{Penentuan aktivitas antioksidan : } \frac{\text{Absorbansi kontrol}-\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorbansi kontrol = Nilai serapan larutan kontrol ABTS pada panjang gelombang maksimal.
Absorbansi sampel = Nilai serapan larutan radikal ABTS setelah penambahan sampel uji pada panjang gelombang maksimal.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 *Fraksinasi daun salam*

Pembuatan ekstrak daun salam dilakukan dengan metode maserasi. Prinsip kerja maserasi adalah dengan merendam sampel ke dalam pelarut dengan perbandingan tertentu. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel. Analit mampu tertarik keluar sel bersama pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi analit di dalam sel dengan larutan yang ada di luar sel sehingga analit akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut akan terus berlanjut hingga terjadi kesetimbangan antara larutan zat aktif dengan larutan yang ada di luar sel. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena merupakan pelarut yang bersifat universal.

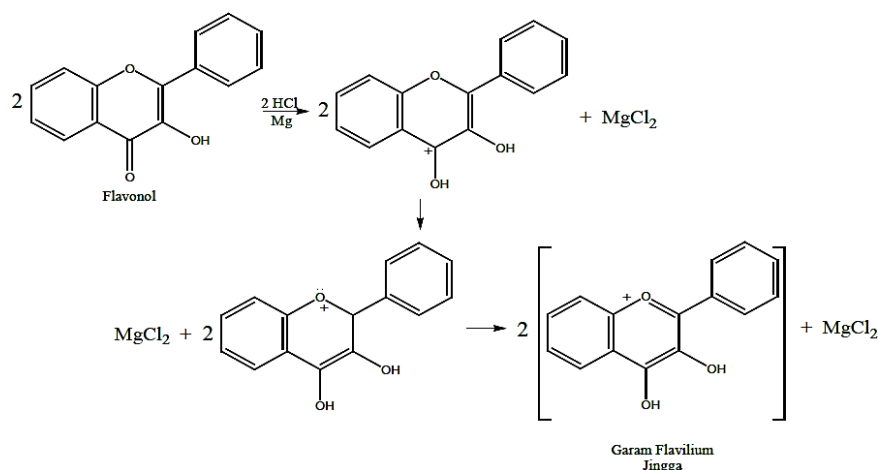
Ekstrak yang telah kental kemudian difraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan derajat kepolarannya. Ekstrak daun salam difraksinasi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Penggunaan pelarut n-heksan bertujuan untuk menarik senyawa yang bersifat non polar seperti klorofil, steroid dan terpenoid. Penggunaan pelarut etil asetat bertujuan untuk menarik senyawa yang bersifat semi polar seperti senyawa golongan polifenol dan flavonoid. Rendemen fraksi etil asetat yang didapatkan sebesar 13,08%.

3.2 Hasil skrining fitokimia

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia

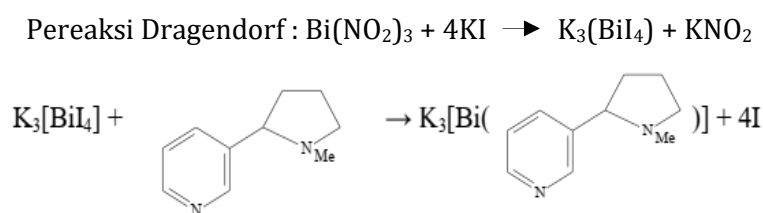
Kandungan	Hasil Uji	Hasil Teori	Ket
Flavonoid	Merah Lembayung	Merah hingga merah lembayung (Hanani, 2015)	+
Alkaloid	Jingga	Merah/Jingga (Susilowati & Wulandari, 2019)	+
Tannin	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman (Susilowati & Wulandari, 2019)	+

Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat dapat dilihat pada Tabel 2. Pada pengujian flavonoid terjadi perubahan warna menjadi merah lembayung. Perubahan warna tersebut dikarenakan penambahan serbuk logam Mg dan HCl pekat mereduksi inti benzopiron flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium yang berwarna merah lembayung (Hanani, 2015). Reaksi pada uji flavonoid disajikan pada Gambar 1.



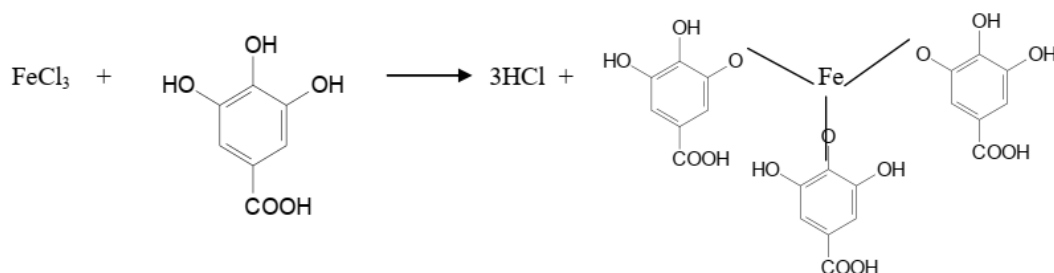
Gambar 1. Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl (Pravita & Dhurhanian, 2023)

Pada uji alkaloid terjadi perubahan warna menjadi jingga hal ini dikarenakan penambahan pereaksi Dragendorff yang menggantikan ligan oleh senyawa alkaloid sehingga terbentuk warna jingga (Sangi *et al.*, 2012). Reaksi pada uji alkaloid disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi alkaloid dengan pereaksi Dragendorf (Sangi *et al.*, 2012)

Pada uji tannin menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Hal tersebut dikarenakan gugus fenol pada tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . (Sangi *et al.*, 2012). Reaksi pada uji tannin disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi tannin dengan FeCl_3 (Sangi *et al.*, 2012)

3.3 Formulasi masker gel peel-off fraksi etil asetat daun salam

Masker gel *peel-off* dibuat dengan bahan aktif fraksi etil asetat daun salam, karena telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan jika dalam bentuk ekstrak, fraksi n-heksan, dan fraksi airnya. Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun salam berada pada kategori sangat kuat, sedangkan ekstrak, fraksi n-heksan, dan fraksi airnya pada kategori kuat (Yandra, 2017; Susilowati & Wulandari, 2019). Pengembangan formula dilakukan dengan variasi kadar fraksi etil asetat daun salam karena merupakan faktor yang berkorelasi langsung dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh sediaan masker gel *peel-off*.

Polivinil Alkohol (PVA) digunakan sebagai pembentuk lapisan *film* yang mudah dikelupas setelah mengering, karena bersifat *adhesif* dan *biocompatible* sehingga mampu memberikan efek *peel-off* (Andini *et al.*, 2017). Hidroksipropil metil selulosa (HPMC) berperan sebagai pengental dengan cara mengabsorpsi pelarut dan menahan cairan sehingga membentuk massa cair yang kompak (Arikumalasari *et al.*, 2013; Anjani, 2018). Konsentrasi PVA dan HPMC menentukan jumlah serat polimer sehingga mempengaruhi banyaknya cairan yang tertahan dan diikat untuk membentuk gel dengan viskositas yang stabil dalam penyimpanan jangka panjang. Dengan demikian peran PVA dan HPMC sebagai *gelling agent* sangat penting dalam membentuk konsistensi masker gel *peel-off* sehingga mempengaruhi karakteristik fisik sediaan, antara lain: viskositas, daya sebar, daya lekat dan waktu mengering. Semakin tinggi konsentrasi PVA dan

HPMC akan meningkatkan viskositas masker gel *peel-off* yang berbanding terbalik dengan daya sebar, daya lekat, dan waktu mengering (Tanjung & Rokaeti, 2020).

3.4 Hasil evaluasi fisik sediaan

Tabel 3. Hasil evaluasi fisik sediaan

Evaluasi fisik	Formula		
	FI	FII	FIII
Organoleptis	Gel, hijau terang, khas daun salam, homogen	Gel, hijau gelap, khas daun salam, homogen	Gel, hijau pekat, khas daun salam, homogen
pH	5,2±0,057	5,9±0,057	6±0,1
Daya sebar (cm)	5,8±0,28	5,5±0,057	5±0,057
Daya lekat (detik)	9,28±0,05	8,41±0,30	11,21±1,50
Viskositas (dPa.s)	130±0	142±2,88	153±2,88
Uji ketahanan lipat	>100x	>100x	>100x
Waktu mengering (menit)	20±1,15	25±1,15	30±0,57

Hasil uji organoleptis pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semua formula memiliki sifat organoleptis yang baik dari segi tekstur, warna, bau, dan homogenitas. Warna sediaan dihasilkan dari perbedaan konsentrasi zat aktif yang digunakan, semakin besar konsentrasi zat aktif maka warnanya akan semakin pekat. Aroma masker dihasilkan dari aroma zat aktif.

Uji pH bertujuan untuk memastikan bahwa pH sediaan sesuai dengan pH kulit. Berdasarkan hasil uji pH pada Tabel 3, semua formula memenuhi persyaratan pH yang baik yaitu 4,5-6,5 (Rahmawanty *et al.*, 2015). Semakin besar konsentrasi zat aktif maka semakin besar pula pH yang didapatkan, hal ini dipengaruhi kandungan senyawa alkaloid yang cenderung bersifat basa, namun semua formula masih memenuhi rentang pH yang dipersyaratkan.

Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 3. Semua formula memenuhi persyaratan daya sebar yang baik yakni 5-7cm (Cahyani & Putri, 2017). Semakin tinggi konsentrasi zat aktif semakin memperkecil area daya sebar. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi zat aktif meningkatkan konsistensi sediaan yang menjadi semakin padat karena jumlah molekul yang dapat mengabsorpsi pelarut semakin banyak sehingga meningkatkan tahanan untuk menyebar (Lutfiana *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil uji daya lekat pada Tabel 3, formula I, II, dan III memenuhi persyaratan daya lekat sediaan yang baik yakni tidak kurang dari 4 detik (Cahyani & Putri, 2017). Perbedaan waktu lekat sediaan dipengaruhi oleh viskositas sediaan. Semakin besar viskositas maka daya lekat sediaan akan menjadi semakin lama.

Hasil uji viskositas pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semua formula memenuhi viskositas yang baik yakni 50-1000 dPa.s (Nurahmanto *et al.*, 2017). Perbedaan nilai viskositas tiap formula disebabkan oleh perbedaan konsentrasi zat aktif. Semakin tinggi konsentrasi zat

aktif maka konsistensi sediaan cenderung semakin padat karena terjadi peningkatan jumlah molekul yang mampu mengabsorpsi pelarut, sehingga meningkatkan tahanan untuk mengalir pada uji viskositas (Sinuhadji, 2018). Dalam hal ini peningkatan viskositas berbanding terbalik dengan daya sebar (Tanjung & Rokaeti, 2020).

Hasil uji ketahanan lipat dapat dilihat pada Tabel 3. Pada uji ketahanan lipat sediaan masker gel *peel-off* tidak ada persyaratan khusus. Semakin banyak lipatan yang dapat dibuat menunjukkan bahwa lapisan *film* yang terbentuk semakin sulit pecah. Hal tersebut menandakan bahwa ketahanan *film* yang terbentuk semakin baik sehingga tidak mudah sobek saat digunakan (Jadhav & Sreenivas, 2012).

Hasil uji waktu mengering pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semua formula memenuhi persyaratan waktu mengering sediaan masker yakni 15-30 menit (Beringhs *et al.*, 2013). Semakin tinggi konsentrasi zat aktif memperlama waktu mengering sediaan, namun masih memenuhi rentang waktu yang dipersyaratkan.

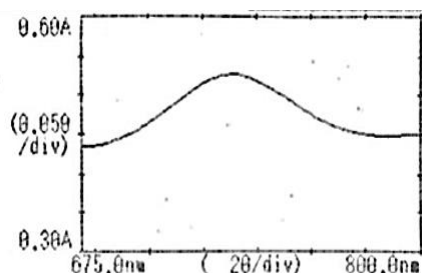
3.5 Hasil uji aktivitas antioksidan

3.5.1 Penentuan operating time

Operating time adalah waktu yang digunakan suatu senyawa agar dapat bereaksi dengan senyawa lain hingga terbentuk senyawa stabil. Hasil *operating time* untuk reaksi antara kuersetin dengan radikal ABTS pada penelitian ini adalah 6-10 menit dengan absorbansi sebesar 0,3962. Hasil tersebut serupa dengan penelitian Pulungan (2018) yang memperoleh *operating time* pada menit ke-6. Oleh karena itu, pengukuran absorbansi pada penelitian ini dilakukan pada menit ke-6.

3.5.2 Penentuan panjang gelombang maksimum

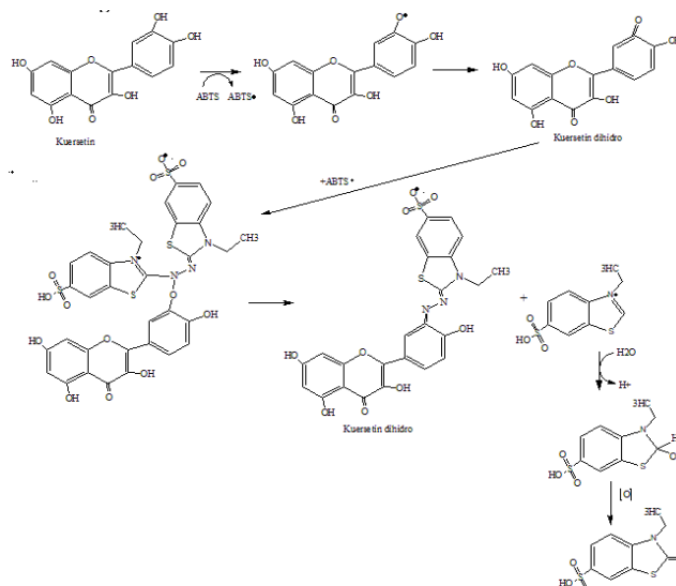
Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan panjang gelombang saat larutan radikal ABTS memiliki serapan maksimum. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada 700-750 nm. Hasil panjang gelombang maksimum pada penelitian ini adalah 732 nm dengan absorbansi 0,5277. Spektrum serapan yang diperoleh saat penentuan panjang gelombang maksimum disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektrum serapan larutan pada penentuan panjang gelombang maksimum

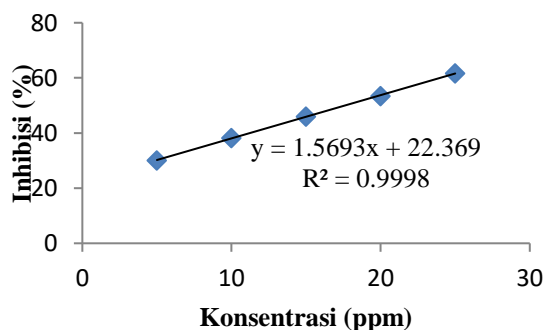
3.5.3 Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin

Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin terhadap radikal ABTS dilakukan sebagai pembanding. Kuersetin dipilih sebagai pembanding karena kuersetin merupakan senyawa golongan flavonol yang tersebar luas pada berbagai tumbuhan sebagai antioksidan alami dengan aktivitas yang sangat kuat. Reaksi antara kuersetin dengan radikal ABTS disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi antara kuersetin dengan radikal ABTS (Jatmiko & Mursiti, 2021)

Berdasarkan kurva pada Gambar 6, didapatkan persamaan regresi linier dengan nilai x sebagai konsentrasi kuersetin dan nilai y sebagai % inhibisi kuersetin terhadap radikal ABTS, dengan nilai r sebesar 0,9998. Nilai koefisien korelasi (r) tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara nilai x dan y memiliki linieritas yang baik. Semakin tinggi konsentrasi analit maka semakin tinggi nilai % inhibisi (peredaman) radikal bebas ABTS.



Gambar 6. Hubungan konsentrasi dengan % inhibisi kuersetin terhadap ABTS

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀), yaitu konsentrasi analit yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Berdasarkan persamaan regresi

linier pada kurva Gambar 6 dapat diperoleh aktivitas antioksidan kuersetin dengan nilai IC_{50} seperti disajikan pada Tabel 4. Nilai IC_{50} kuersetin rata-rata sebesar 17,5809 ppm, sehingga tergolong ke dalam antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm).

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan kuersetin

Replikasi	% Inhibisi					IC_{50} (ppm)	Rata-rata IC_{50} (ppm)
	5 ppm	10 ppm	15 ppm	20 ppm	25 ppm		
Kuersetin	1	30,6478	38,5053	46,0071	53,6512	62,1029	17,4455
	2	29,2384	37,7081	45,9074	53,1387	61,1672	17,6486
	3	30,5053	38,4199	45,9644	53,6512	61,1814	17,6486

3.5.4 Pengujian aktivitas antioksidan masker gel peel-off

Hasil uji aktivitas antioksidan sediaan masker gel *peel-off* disajikan pada Tabel 5. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin besar. Berdasarkan Tabel 5 diketahui bahwa semakin tinggi kadar fraksi etil asetat dalam formula mampu meningkatkan aktivitas antioksidan sediaan masker gel *peel-off*. Formula I dan II memiliki aktivitas antioksidan pada kategori kuat ($50 < IC_{50} < 100$ ppm) dengan nilai IC_{50} rata-rata 67,4243 ppm untuk formula I dan 59,7467 ppm untuk formula II. Nilai IC_{50} formula III sebesar 46,6954 ppm yang tergolong dalam aktivitas antioksidan pada kategori sangat kuat (<50 ppm).

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antioksidan sediaan masker gel *peel-off*

Replikasi	% Inhibisi					IC_{50} (ppm)	Rata-rata IC_{50} (ppm)
	30 ppm	40 ppm	50 ppm	60 ppm	70 ppm		
Formula I	1	14,6049	24,0854	33,5516	42,9893	52,5409	67,3256
	2	14,6334	24,1138	33,5658	42,9750	52,3843	67,4512
	3	14,6619	24,0854	33,4864	42,9466	52,3701	67,4962
Formula II	1	22,1637	31,5729	40,8825	50,2348	59,5160	59,7784
	2	22,2206	31,6298	41,0106	50,3202	59,6298	59,6708
	3	22,2206	31,6441	40,8540	50,0640	59,6156	59,7909
Formula III	1	34,8896	43,9715	53,1387	62,2064	70,9608	46,8570
	2	34,8896	44,0142	53,1530	62,3487	71,0177	46,5954
	3	34,8896	44,0142	53,1672	62,2775	70,8469	46,6340

Berdasarkan analisis statistik dengan uji *post hoc*, diperoleh nilai signifikansi kurang dari 0,05, yaitu 0,000. Dengan demikian nilai IC_{50} antar kelompok perlakuan, yaitu aktivitas antioksidan kuersetin, formula I, II, dan III memiliki perbedaan yang bermakna. Namun aktivitas antioksidan kuersetin dan formula III termasuk dalam kategori sangat kuat, karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm.

4. Kesimpulan

Berdasarkan data penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat daun salam pada konsentrasi 1,5% mampu menghasilkan masker gel *peel-off* dengan karakteristik fisik paling baik, disertai dengan aktivitas antioksidan pada kategori sangat kuat.

Ucapan terimakasih

Terimakasih disampaikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memberikan dukungan fasilitas selama proses penelitian.

Daftar pustaka

- Agustina, S., Ruslan, & Wiraningtyas, A. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Applied Chemistry)*, 4(1), 71-76.
- Andini, T., Yusriadi, & Yuliet. (2017). Optimasi Pembentuk Film Polivinil Alkohol dan Humektan Propilen Glikol pada Formula Masker Gel Peel off Sari Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata Duchesne*) sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika*, 3(2), 165-173. <https://doi.org/10.22487/j24428744.0.v0.i0.8773>
- Anjani, D. (2018). Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Masker Peel Off Minyak Atsiri Kulit Buah Lemon (*Citrus limon L.*). *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Arikumalasari, J., Dewantara, I.G.N.A., & Wijayanti, N.P.A.D. (2013). Optimasi HPMC Sebagai Gelling Agent Dalam Formula Gel Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(3), 145-152.
- Beringhs, A.O.R., Rosa, J.M., Stulzer, H.K., Budal, R.M., & Sonaglio, D. (2013). Green Clay and Aloe Vera Peel-Off Facial Masks: Response Surface Methodology Applied To The Formulation Design. *AAPS PharmSciTech.*, 14(1), 445-455. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-9930-8>
- Cahyani, I.M., & Putri, I.D.C. (2017). Formulation of Peel-Off Gel From Extract Of *Curcuma heyneana Val & Zijp* Using Carbopol 940. *Journal of Pharmaceutical and Medicine Science*, 2(2), 48-51.
- Froelich, A., Osmalek, T., Snela, A., Kunstman, P., Jadach, B., Olejniczak, M., Roszak, G., & Białas, W. (2017). Novel Microemulsion-Based Gels For Topical Delivery Of Indomethacin: Formulation, Physicochemical Properties And In Vitro Drug Release Studies. *Journal of Colloid and Interface Science*, 507, 1-38. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.08.011>
- Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia*. ECG, Jakarta.
- Jadhav, J.K., & Sreenivas, S.A. (2012). Formulation and Invitro Evaluation Of Indomethacin Transdermal Patches Using Polymers HPMC E5 and Ethyl Cellulose. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 550-556.
- Jatmiko, M.P., & Mursiti, S. (2021). Isolation, Identification, and Activity Test of Flavonoid Compounds in Jamblang Leaves (*Syzygium cumini L.*) Skeel as Antioxidants. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 10(2), 129-138.
- Lutfiana, S.I., Dellima, B.R.E.M., & Rosita, M.E. (2021). Formulasi dan Uji Sifat Fisik Masker Gel Peel-Off Serbuk Biji Salak (*Salacca zalacca (Gaertn.) Voss*). *Jurnal Farmasi dan Kesehatan Indonesia*, 1(2), 54-64. <https://doi.org/10.61179/jfki.v1i2.233>
- Mahajan, S.B., Patil, H., Solanki, K., Tare, T., Wagh, S., Sonare, P., & Bairagi, V.A. (2024). Formulation and Evaluation of Multi-Herb Peel Off Mask. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 84(4), 143-149. <https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2024.v84i04.022>
- Nurahmanto, D., Mahrifah, I.R., Azis, R.F.N.I., & Rosyidi, V.A. (2017). Formulasi Sediaan Gel Dispersi Padat Ibuprofen : Studi Gelling Agent Dan Senyawa Peningkat Penetrasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 96-105.
- Parwata, I.M.O.A. (2016). *Bahan Ajar Antioksidan*. Kimia Terapan Pasca Sarjana Universitas Udayana, Bali.
- Pravita, C.S., & Dhurhanian, C.E. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Perasan Lemon (*Citrus limon (L.) Osbeck*) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Health Sciences and Pharmacy Journal*, 7(1), 44-53. <https://doi.org/10.32504/hspj.v7i1.653>

- Priani, S.E., Irawati, I., & Darma, G.C. (2015). Formulasi Masker Gel Peel Off Kulit Buah Maggis (*Garcinia mangostana* Linn.). *Ijpest*, 2(3), 90–95.
- Pulungan, W.U., 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol Daun Mobe (*Artocarpus Lacucha Buch-Ham.*) dengan Metode Pemerangkapan ABTS. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Puspitasari, M.L., Wulansari, T.V., Widyaningsih, T.D., Malingan, J.M., & Nugrahini, N.I.P. (2016). Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 283–290.
- Rahmawanty, D., Yulianti, N., & Fitriana, M. (2015). Formulasi dan Evaluasi Masker Wajah Peel-Off Mengandung Kuersetin Dengan Variasi Konsentrasi Gelatin Dan Gliserin. *Media Farmasi*, 12(1), 17–32.
- Ratnasari, D., & Kasasiah, A. (2018). Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Masker Peel-Off Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* F) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 94–105.
- Sangi, M.S., Momuat, L.I., & Kumaunang, M. (2012). Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelelah Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 127–134.
- Setyaningrum, N.L. (2013). Pengaruh Variasi Kadar Basis HPMC Dalam Sediaan Gel Ekstrak Etanolik Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) Terhadap Sifat Fisik dan Daya Antibakteri Pada *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sinuhadji, I.A.B. (2018). Formulasi dan Uji Aktivitas Masker Gel Peel- Off Ekstrak Daun Katuk (*Breynia androgyna* (L.)) Sebagai Anti-aging. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Solin, H. (2019). Formulasi Sediaan Masker Gel Peel Off Dari Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Karya Tulis Ilmiah*. Institut Kesehatan Helvetia.
- Susilowati, & Wulandari, S. (2019). Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) dengan Metode DPPH (1, 1 Difenil-2 pikrilhidrazil. *Indonesian Journal on Medical Science*, 6(2), 39–44.
- Tanjung, Y.P., & Rokaeti, A.M. (2020). Formulasi dan Evaluasi Fisik Masker Wajah Gel Peel Off Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*). *Majalah Farmasetika*, 4(1), 157–166. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v4i0.25875>
- Yandra, I.K.A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi N- Heksan, Fraksi Air Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* L.) Dengan Metode Uji Pereaksi Difenilpikrilhidrazil (DPPH). *Skripsi*. STIFI Bhakti Pertiwi Palembang.



Antioxidant activity of the ethyl acetate fraction of the seed of kesumba (*Bixa orellana* L.), ethyl-acetate of the turmeric fraction (*Curcuma longa* L.), and its combination

Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat biji kesumba (*Bixa orellana* L.), fraksi etil asetat kunyit (*Curcuma longa* L.), dan kombinasinya

Asniati Asniati, Winda Rahmalia, Endah Sayekti*

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

*Corresponding author: endah.sayekti@chemistry.untan.ac.id

Abstract

Background: Antioxidants are compounds that can neutralize free radicals, so they can prevent degenerative diseases such as cardiovascular disease, carcinogenesis, and other diseases. Natural ingredients such as kesumba (*Bixa orellana* L.) seeds and turmeric (*Curcuma longa* L.) contain natural pigments that have antioxidant activity. Kesumba seeds contain bixin, and turmeric contains curcumin, each of which is an antioxidant compound that can protect cells in the body and prevent oxidative stress due to free radicals.

Objective: To determine the effect of the combination ratio of the ethyl acetate fraction of kesumba seeds and the ethyl acetate fraction of turmeric on antioxidant activity.

Method: Extraction was carried out by the maceration method, followed by fractionation. A qualitative test of the content of compounds in each extract and fraction of kesumba seeds and turmeric was carried out using the TLC method. The antioxidant activity test of each ethyl acetate fraction of kesumba seeds (FB) and ethyl acetate fraction of turmeric (FK) and their combination was carried out using the DPPH method.

Results: The research showed that each combination in the mass ratio of the ethyl acetate fraction of kesumba seeds (FB) to the ethyl acetate fraction of turmeric (FK) was 242.95, 65.78, 42.48, 108.81, and 51.46 mg/L for each of the mass ratios (1:0), (3:7), (1:1), (7:3), and (0:1). The combination ratio of FB:FK, which is 1:1, has an effect on increasing antioxidant activity. This combination provides a synergistic effect that can increase antioxidant activity, with an IC₅₀ value of 42.48 mg/L.

Conclusion: Based on the results of the study, it can be concluded that the combination of the ethyl acetate fraction of kesumba seeds (FB) and the ethyl acetate fraction of turmeric (FK) has an effect on increasing antioxidant activity in the ratio of FB:FK (1:1) with an IC₅₀ value of 42.48 mg/L, which is included in the very strong antioxidant category.

Keywords: Kesumba seeds, turmeric, bixin, curcumin, antioxidant

Intisari

Latar belakang: Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis dan penyakit lainnya. Bahan alam seperti biji kesumba (*Bixa orellana* L.) dan kunyit (*Curcuma longa* L.) mengandung pigmen alami yang memiliki aktivitas antioksidan. Biji kesumba mengandung bixin dan kunyit mengandung kurkumin yang masing-masing merupakan senyawa antioksidan sehingga mampu melindungi sel-sel dalam tubuh dan mencegah stress oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas.

Tujuan: Untuk mengetahui pengaruh rasio kombinasi fraksi etil asetat biji kesumba dan fraksi etil asetat kunyit terhadap aktivitas antioksidan.

Metode: Ekstraksi menggunakan metode maserasi dan dilanjutkan dengan fraksinasi. Uji kualitatif kandungan senyawa dalam masing-masing ekstrak dan fraksi bixin dan kurkumin dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Uji aktivitas antioksidan masing-masing fraksi etil asetat biji kesumba dan fraksi etil asetat kunyit serta kombinasinya dilakukan menggunakan metode DPPH.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiap kombinasi rasio massa fraksi etil asetat biji kesumba (FB);

fraksi etil asetat kunyit (1:0), (3:7), (1:1), (7:3) dan (0:1) memiliki aktivitas antioksidan berturut-turut sebesar 242,95; 65,78; 42,48; 108,81; dan 51,46 mg/L. Kombinasi tersebut memberikan efek sinergis yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 42,48 mg/L.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada kombinasi fraksi etil asetat biji kesumba (FB) dan fraksi etil asetat kunyit (FK) dengan rasio FB:FK (1:1) memberikan pengaruh pada peningkatan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 42,48 mg/L yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat.

Kata kunci: Biji kesumba, kunyit, bixin, kurkumin, antioksidan

1. Pendahuluan

Antioksidan adalah senyawa yang penting dalam tubuh kita karena dapat menghambat radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa yang sangat reaktif akibat adanya elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluar sehingga menyebabkan terjadinya reaksi berantai secara terus menerus. Reaksi ini mengambil elektron yang terdapat pada sel normal untuk menstabilkan reaksi berantai dan menyebabkan kerusakan pada sel normal. Senyawa antioksidan dapat menghentikan reaksi berantai dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada radikal bebas yang tidak stabil sehingga elektron terluarnya menjadi berpasangan dan menjadi stabil (Rahmi, 2017).

Senyawa antioksidan dapat bersumber dari bahan alam seperti tanaman kesumba (*Bixa orellana* L.). Biji kesumba berwarna merah karena mengandung pigmen alami dari golongan apokarotenoid bixin dan norbixin. Warna *orange* kemerahan pada biji kesumba disebabkan bixin memiliki sembilan ikatan rangkap terkonjugasi yang disebut kromofor (Rahmalia & Naselia, 2021). Pigmen bixin berkaitan erat dengan aktivitas antioksidannya. Menurut Kurniawati *et al.* (2007) pigmen bixin memiliki sifat antioksidan yang bisa menetralkan radikal bebas berlebihan namun aktivitasnya sangat lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 548 mg/L.

Selain kesumba, tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) juga termasuk tanaman tropis yang banyak terdapat di Indonesia (Ar Rahmah, 2019). Kunyit mengandung kurkuminoid utama yaitu kurkumin dan dua turunan demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin yang memiliki berbagai aktivitas termasuk antioksidan. Kurkumin merupakan senyawa polifenol dengan rumus kimia $C_{12}H_{20}O_6$ yang merupakan kelompok senyawa antioksidan alami yang dapat menangkal radikal bebas dan berperan sebagai donor hidrogen (Abdurrahman, 2019). Uji aktivitas antioksidan kurkumin yang dilakukan oleh Wahyuningtyas *et al.* (2017) menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 51,17 mg/L.

Riaminanti *et al.* (2016) melaporkan bahwa kapasitas antioksidan (mg GAEC/100 mg ekstrak) dari ekstrak kunyit dan ekstrak asam masing-masing sebesar 3,73% dan 1,43%. Setelah ekstrak kunyit dan ekstrak daun asam dicampur dengan rasio 55:45 menghasilkan kapasitas antioksidan (mg GAEC/100 mg ekstrak) sebesar 4,844%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terjadi sinergisme terhadap meningkatnya kapasitas antioksidan ketika ekstrak kunyit dan ekstrak daun

asam dicampur pada rasio tertentu. Dalam penelitian ini, dilakukan uji aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat biji kesumba, fraksi etil asetat kunyit, serta kombinasi keduanya untuk mengetahui pengaruh rasio kombinasi keduanya terhadap sifat aktivitas antioksidan.

2. Metode

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu aluminium foil, ayakan 80 *mesh*, gelas beker, blender, batang pengaduk, *bulb*, corong pisah, cawan petri, *chamber* KLT, *hot plate*, kaca arloji, kertas saring, kertas label, labu ukur, neraca analitik, pipet volume, pipet tetes, pisau, plat KLT silica gel₆₀ F₂₅₄, rak tabung reaksi, *rotary evaporator*, saringan, spatula, tabung reaksi, *wrapping* dan spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV 2600*).

2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades, aseton (Smart-Lab), etanol (Supelco), biji kesumba yang diperoleh dari Pontianak Kalimantan Barat, DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil) (Himedia), Diklorometana (Supelco), etil asetat (Full time), kunyit, klorofom (Supelco), metanol (Supelco) dan *n*-heksana (Fulltime).

2.3. Preparasi sampel biji kesumba

Preparasi biji kesumba pada penelitian ini mengadopsi metode Naselia *et al.* (2020) yang telah dimodifikasi. Biji kesumba dipisahkan dari kulit buahnya dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 7 jam.

2.4. Preparasi sampel kunyit

Preparasi sampel kunyit pada penelitian ini mengadopsi metode Christina *et al.* (2018) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 2 kg kunyit dicuci dengan air mengalir untuk membuang pengotor seperti tanah, pasir, dan sebagainya hingga bersih lalu ditiriskan. Kemudian rimpang kunyit dipotong-potong menjadi bagian yang lebih kecil sekitar 1 mm. Kunyit yang sudah diiris kemudian dilakukan proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 55°C selama 5 jam. Setelah sampel kering lalu dihaluskan dengan menggunakan *blender*. Setelah itu disaring dengan menggunakan saringan 60 *mesh* sehingga menjadi bubuk kunyit.

2.5 Ekstraksi bixin

Ekstraksi bixin dari biji kesumba pada penelitian ini mengadopsi metode Rahmalia *et al.* (2021) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 100 g biji kesumba kering direndam dalam 200 mL etil asetat dalam gelas *beaker*, diaduk selama 1 jam dan disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan biji kesumba setelah proses ekstraksi. Proses tersebut diulangi sampai semua warna terekstraksi kedalam pelarut etil asetat, kemudian ekstrak etil asetat biji kesumba dilakukan evaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etil asetat biji kesumba. Selanjutnya terhadap ekstrak kental tersebut dilakukan partisi menggunakan *n*-heksana, endapan yang terbentuk disaring lalu dilarutkan dalam metanol. Endapan yang tidak larut dalam metanol kemudian disaring lalu dilarutkan ke dalam etil asetat (selanjutnya disebut dengan fraksi etil asetat biji kesumba, FB). FB diuapkan lalu ditimbang dan dihitung rendemennya.

2.6 Ekstraksi kurkumin

Ekstraksi senyawa aktif dari kunyit pada penelitian ini mengadopsi metode Christina *et al.* (2018) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 100 g sampel bubuk kunyit dilakukan maserasi dalam 200 mL etanol selama 24 jam dengan pengadukan setiap 12 jam sekali. Setelah 24 jam, larutan disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1. Berikutnya ke dalam sampel ditambahkan lagi dengan pelarut etanol, setelah 24 jam lalu disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1. Larutan hasil penyaringan (filtrat) diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah itu ekstrak etanol dipartisi menggunakan *n*-heksana, endapan yang terbentuk disaring lalu dilarutkan menggunakan etanol. Selanjutnya endapan yang tersisa setelah penambahan metanol disaring lalu dilarutkan menggunakan etil asetat (selanjutnya disebut dengan fraksi etil asetat kunyit, FK). FK diuapkan pada suhu 40°C menggunakan *rotary evaporator*, dilanjutkan pengeringan menggunakan gas N₂. Setelah itu FK yang dihasilkan ditimbang dan dihitung rendemennya.

2.7 Pembuatan larutan kombinasi bixin dan kurkumin

Pembuatan larutan sampel kombinasi FB dan FK mengadopsi metode Septiawan *et al.* (2020) yang telah dimodifikasi. Kombinasi tersebut dibuat dengan menyiapkan larutan induk terlebih dahulu dengan cara menimbang masing-masing FB dan FK sebanyak 50 mg secara terpisah, kemudian dilarutkan dalam etanol absolut menggunakan labu ukur 100 mL dan ditepatkan hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan induk FB dan FK masing-masing dengan konsentrasi larutan sebesar 500 mg/L. Setelah itu, pembuatan larutan kombinasi FB:FK dengan variasi rasio 1:0, 7:3, 1:1,

3:7 dan 0:1 (v/v) dilakukan dengan mengencerkan larutan induk dari 500 mg/L menjadi 50 mg/L, dimana tiap variasi rasio larutan tersebut diambil dengan total volume larutan sebanyak 5 mL untuk mendapatkan konsentrasi larutan sebesar 50 mg/L. Pembuatan larutan sampel untuk variasi rasio FB:FK (1:0) dibuat dengan mengambil larutan induk FB sebanyak 5 mL; untuk variasi (7:3) dibuat dengan mengambil larutan induk FB sebanyak 3,5 mL dan larutan induk FK 1,5 mL; variasi (1:1) dibuat dengan cara mengambil larutan induk FB dan FK masing-masing sebanyak 2,5 mL; dan variasi (3:7) dibuat dengan cara mengambil larutan induk FB sebanyak 1,5 mL dan larutan induk FK 3,5 mL dan variasi (0:1) dibuat dengan cara mengambil larutan induk FK sebanyak 5 mL, lalu setiap variasi rasio dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditepatkan menggunakan etanol absolut, sehingga diperoleh konsentrasi larutan tiap variasi rasio sebesar 50 mg/L.

2.8 Uji aktivitas antioksidan

2.8.1 Pembuatan larutan stok DPPH 40 mg/L

Pembuatan larutan stok mengadopsi metode Adrianta (2020) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 2 mg DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan etanol absolut hingga tanda batas dikocok hingga homogen.

2.8.2 Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum mengadopsi metode Adrianta (2020). Larutan baku DPPH 40 mg/L dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan 2 mL pelarut etanol absolut, dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dikocok hingga homogen ditutup dengan aluminium foil dalam ruangan gelap selama 30 menit. Setelah itu dituang ke dalam kuvet kemudian diukur pada panjang gelombang 400-600 nm.

2.8.3 Pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas DPPH

Pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas DPPH mengadopsi metode Adrianta (2020). Larutan kombinasi FB:FK (1:0), (7:3), (1:1), (3:7) dan (0:1) dengan konsentrasi larutan 50 mg/L, diencerkan menjadi seri konsentrasi 4, 6, 8, 10 dan 12 mg/L. Pembuatan seri konsentrasi dilakukan dengan mengambil larutan tiap kombinasi FB:FK (1:0), (7:3), (1:1), (3:7) dan (0:1) masing-masing sebanyak 2, 3, 4, 5, dan 6 mL lalu dimasukkan masing-masing ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol absolut hingga tanda batas.

Preparasi larutan untuk pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas. Larutan kombinasi FB:FK (1:0), (7:3), (1:1), (3:7) dan (0:1) dengan konsentrasi 4, 6, 8, 10 dan 12 mg/L, masing-masing diambil sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda, lalu ditambahkan 2 mL

larutan DPPH 40 mg/L. Pengukuran larutan blanko dilakukan dengan cara mengambil larutan DPPH 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2 mL pelarut etanol absolut. Setelah itu, seluruh tabung reaksi dikocok dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit di tempat gelap. Setelah itu, masing-masing larutan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan seluruh hasil yang diperoleh dicatat. Perlakuan sampel uji masing-masing konsentrasi dilakukan secara *triplo*.

2.9 Perhitungan parameter uji antioksidan

Persentase aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil) dinyatakan dalam bentuk persentase peredaman, dapat dihitung dengan persamaan berikut (Souhoka *et al.*, 2019):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A₀ = Absorbansi kontrol (tanpa sampel)

A_t = Absorbansi sampel uji

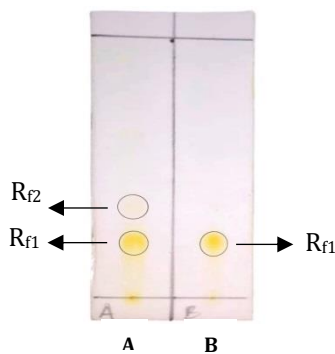
Konsentrasi antara persen peredaman dengan konsentrasi sampel uji diplotkan dan nilai IC₅₀ dihitung dari persamaan regresi linier $y = ax + b$, dimana y sebesar 50 dan x sebagai nilai IC₅₀. Parameter yang digunakan untuk uji peredaman radikal bebas DPPH adalah nilai IC₅₀ yang merupakan konsentrasi sampel uji yang dibutuhkan untuk menghambat radikal DPPH sebesar 50%, semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Ekstraksi bixin

Ekstraksi senyawa aktif dari biji kesumba dilakukan menggunakan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat karena sifat kandungan utama dari biji kesumba yaitu bixin dapat larut baik dalam pelarut etil asetat dibandingkan dengan pelarut lainnya. Struktur bixin yang terdiri dari rantai poliena dan memiliki gugus karboksilat serta metil ester yang menyebabkan bixin memiliki afinitas yang lebih besar pada pelarut semi polar (Rahmalia *et al.*, 2014). Hasil rendemen ekstrak kasar biji kesumba yang diperoleh adalah sebesar 3,019% dari berat kering biji kesumba 100 gram. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan partisi dengan melarutkan ekstrak ke dalam pelarut *n*-heksana dan metanol (Maharani *et al.*, 2022).

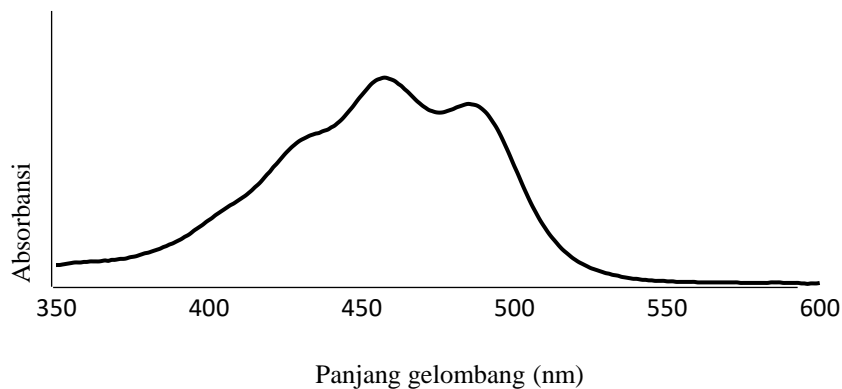
Ekstrak etil asetat biji kesumba dan fraksi etil asetat biji kesumba (FB) yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode KLT yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji kesumba. Prinsip KLT adalah distribusi senyawa antara fase diam (padat) yang diterapkan pada kaca atau pelat plastik dan fase gerak cair (pelarut elusi) yang bergerak melalui fase diam. Fase gerak adalah pelarut yang dipilih sesuai dengan sifat-sifat komponen dalam campuran (Kumar *et al.*, 2013). Analisis KLT ini dilakukan menggunakan eluen *n*-heksan dan etil asetat dengan perbandingan (6:4), dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil KLT A) ekstrak EA, B) fraksi EA dari biji kesumba (FB) dalam eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4) dengan fase diam silika gel

Berdasarkan Gambar 1, ekstrak EA biji kesumba menghasilkan dua *spot* dengan nilai R_{f1} 0,26 yang diduga senyawa bixin dan nilai R_{f2} 0,38 adalah senyawa selain bixin, sedangkan pada fraksi EA dari biji kesumba (FB) menunjukkan hanya satu *spot* yang diduga senyawa bixin dengan nilai R_{f1} sebesar 0,26. Nilai R_{f1} yang diperoleh mendekati nilai R_f bixin standar yang dihasilkan oleh Albuquerque *et al.* (2015) yaitu sebesar 0,27.

Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk mengetahui karakteristik daerah serapan fraksi EA dari biji kesumba yang diduga merupakan daerah serapan bixin. Analisis dilakukan dengan melarutkan sedikit fraksi EA biji kesumba (FB) ke dalam pelarut etanol lalu dilakukan *scanning* pada rentang panjang gelombang 300-600 nm. Spektrum UV-Vis fraksi EA biji kesumba (FB) dapat dilihat pada Gambar 2.

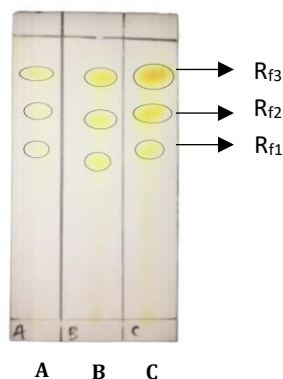


Gambar 2. Spektra UV-Vis fraksi EA biji kesumba (FB) dalam pelarut etanol

Berdasarkan Gambar 2 dapat diamati bahwa fraksi EA biji kesumba (FB) memiliki karakteristik tiga puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 485, 457, dan 428 nm. Karakteristik ini tidak jauh berbeda dengan pengukuran bixin yang muncul 3 puncak pada panjang gelombang 486, 458, dan 432 nm dalam pelarut etanol (Kumar, 2005). Absorbansi yang terjadi pada daerah panjang gelombang di atas 400 nm menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada senyawa bixin. Puncak yang muncul pada panjang gelombang 485 dan 457 nm menunjukkan adanya transisi elektron dari π ke π^* yang dihasilkan dari ikatan terkonjugasi C=C, sedangkan puncak yang muncul pada panjang gelombang 428 nm, karena adanya transisi elektron dari n ke π^* yang dihasilkan oleh gugus karbonil C=O (Maharani *et al.*, 2022).

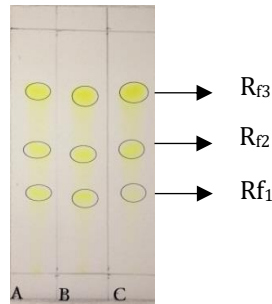
3.2. Ekstraksi kurkumin

Ekstraksi senyawa aktif dari kunyit pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Senyawa kurkuminoid merupakan senyawa yang bersifat polar disebabkan adanya gugus -OH. Kurkuminoid larut dalam pelarut-pelarut yang memiliki kepolaran hampir sama. Etanol merupakan pelarut yang memiliki kepolaran mirip dengan kurkuminoid sehingga digunakan untuk mengekstrak kurkuminoid (Himawan *et al.*, 2012). Hasil rendemen ekstrak kunyit yang diperoleh adalah sebesar 33,802%.



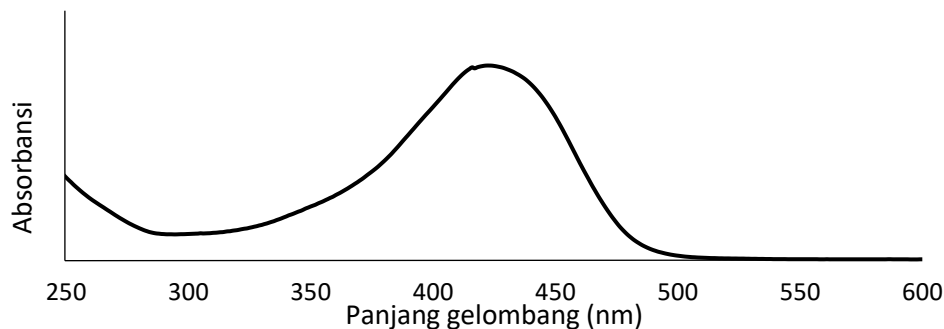
Gambar 3. Hasil KLT A) ekstrak kunyit, B) fraksi EA kunyit (FK) dan C) kurkumin standar dalam eluen klorofom:metanol (95:5)

Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan partisi dengan melarutkan ekstrak ke dalam pelarut *n*-heksana. Tujuannya adalah untuk melarutkan senyawa selain bixin, senyawa yang bersifat non-polar dari ekstrak. Endapan yang terbentuk pada proses ini menunjukkan bahwa senyawa target dalam ekstrak biji kesumba tidak larut dalam pelarut non-polar, namun larut dalam semi polar. Setelah itu, larutan disaring untuk memisahkan ekstrak *n*-heksana dan fraksi etil asetat (EA). Fraksi yang terdapat pada kertas saring, kemudian diambil dan dilarutkan kembali dalam pelarut metanol. Tujuannya adalah untuk melarutkan senyawa polar selain bixin yang masih ada dalam ekstrak kemudian larutan disaring kembali dengan kertas saring untuk memisahkan fraksi EA dan fraksi metanol. Hasil saringan sebelumnya diambil dan dibilas kembali menggunakan pelarut etil asetat yang bertujuan untuk mendapatkan ekstrak yang hanya mengandung senyawa bixin. Fraksi EA yang dihasilkan kemudian dikeringkan untuk menghilangkan pelarutnya (Maharani *et al.*, 2022). Ekstrak dan fraksi EA kunyit yang diperoleh kemudian dianalisis dengan metode KLT yang bertujuan untuk mengetahui komponen kimia yang terdapat pada ekstrak dan fraksi kunyit seperti pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3, ekstrak kunyit dan fraksi EA kunyit (FK) masing-masing menghasilkan tiga *spot* pemisahan dengan nilai R_{f1} 0,62, R_{f2} 0,76 dan R_{f3} 0,92 untuk ekstrak kunyit, sedangkan fraksi EA kunyit (FK) dengan nilai R_{f1} 0,60, R_{f2} 0,72, R_{f3} 0,88. Nilai R_f masing-masing ekstrak kunyit dan fraksi EA kunyit (FK) yang dihasilkan mendekati nilai R_f kurkumin standar yaitu R_{f1} 0,62, R_{f2} 0,76 dan R_{f3} 0,90. Hasil dari tiga *spot* pemisahan yang dihasilkan secara berurutan diidentifikasi sebagai bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin dan kurkumin (Suharsanti *et al.*, 2020).



Gambar 4. Hasil KLT (A) Ekstrak kunyit (B) Fraksi EA kunyit (FK) dan (C) kurkuminoid standar dalam eluen diklorometana:etanol (95:5)

Hasil identifikasi kurkumin dengan KLT terhadap ekstrak EA kunyit dan fraksi EA kunyit (FK) menggunakan eluen yang berbeda yaitu diklorometana:etanol (95:5) (pada Gambar 3) juga menghasilkan tiga *spot* pemisahan pada masing-masing ekstrak kunyit dan fraksi EA kunyit (FK). Ekstrak EA kunyit menghasilkan nilai R_{f1} sebesar 0,34, R_{f2} 0,52 dan R_{f3} 0,78, sedangkan pada fraksi EA kunyit menghasilkan nilai R_{f1} sebesar 0,32, R_{f2} 0,50 dan R_{f3} 0,76. Fraksi EA kunyit (FK) mendekati nilai R_f kurkuminoid standar dengan nilai R_{f1} 0,34, R_{f2} 0,52 dan R_{f3} 0,78. Berdasarkan hasil yang diperoleh dengan eluen yang berbeda dihasilkan tiga *spot* pemisahan, maka ekstrak kunyit dan fraksi EA kunyit (FK) dapat diidentifikasi sebagai bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin dan kurkumin. Fraksi EA kunyit (FK) dalam pelarut etanol, dilakukan *scanning* dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 300-600 nm dapat dilihat pada Gambar 5.



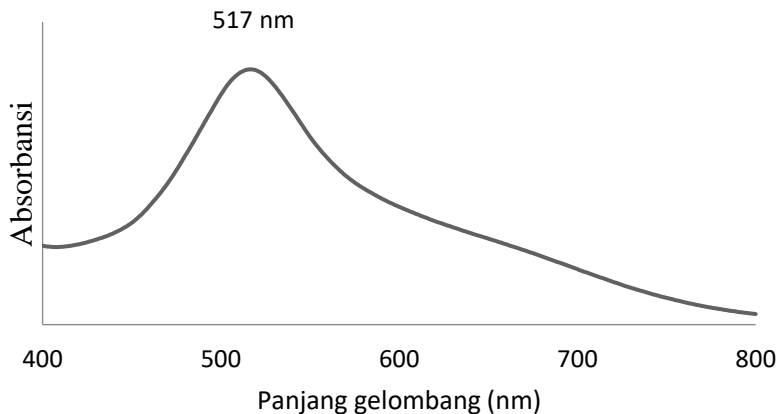
Gambar 5. Spektra UV-Vis fraksi EA kunyit (FK) dalam pelarut etanol

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa fraksi EA kunyit (FK) memiliki panjang gelombang maksimum pada 423 nm. Hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan panjang gelombang maksimum kurkumin yaitu pada panjang gelombang 421 nm (Van Nong *et al.*, 2016).

3.4. Uji aktivitas antioksidan bixin dan kurkumin serta kombinasinya

Pengujian aktivitas antioksidan FB, FK dan kombinasinya dilakukan dengan metode DPPH (difenil pikrihidrazil) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu ruang. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH dilakukan dengan cara mengukur serapan absorbansi larutan DPPH 40 mg/L yang telah dibuat larutan berwarna ungu, diambil dengan pipet sebanyak 2 mL larutan DPPH dan 2 mL larutan etanol absolut lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok hingga homogen, kemudian dilakukan *scanning* pada rentang panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Berdasarkan Gambar 6, spektra UV-Vis larutan DPPH memiliki λ maks 517 nm, sehingga panjang gelombang tersebut akan digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Handayany *et al.* (2018) bahwa DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet yang gelap. Menurut Septiawan *et al.* (2020), panjang gelombang maksimum DPPH berkisar antara 515-522 nm. Senyawa bixin dari biji kesumba merupakan zat warna yang termasuk dalam golongan karotenoid memiliki aktivitas antioksidan, sehingga berpotensi dalam menetralkan radikal bebas (Souhoka *et al.*, 2019).



Gambar 6. Spektra UV-Vis larutan DPPH

Selain itu, kurkumin dari ekstrak kunyit termasuk golongan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat menangkal radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil yang melekat pada dua cincin aromatik. Gugus hidroksil pada isomer keto dan enol berperan dalam aktivitas antioksidan yang diduga mampu mengurangi dua radikal bebas karena gugus O-H fenolik bersifat labil, sehingga atom H mudah untuk didonorkan pada radikal bebas (Barzegar, 2012).

Tabel 1. Hasil perhitungan % inhibisi FB, FK dan kombinasinya

Sampel	Konsentrasi (mg/L)				
	% Inhibisi				
	4	6	8	10	12
FB:FK (1:0)	14,387	14,465	14,858	15,369	15,448
FB:FK (7:3)	1,340	3,485	4,915	6,792	7,507
FB:FK (1:1)	3,687	6,391	8,702	11,013	13,373
FB:FK (3:7)	1,348	3,356	4,647	4,876	5,163
FB:FK (0:1)	8,277	10,746	12,204	13,195	15,786

Hasil pada Tabel 1, menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji, maka semakin meningkat persen inhibisi. Hal ini karena semakin banyak atom hidrogen dari senyawa bixin dan kurkumin yang berpasangan dengan elektron radikal bebas DPPH. Menurut Septiawan *et al.* (2020) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tinggi persen inhibisi yang dihasilkan. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan dalam penelitian Rikantara *et al.* (2022) bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, maka semakin besar kemampuan sampel dalam menangkal radikal bebas karena banyak atom hidrogen yang didonorkan oleh senyawa metabolit sekunder pada senyawa DPPH sehingga semakin banyak juga reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH.

Persen inhibisi yang dihasilkan kemudian diplot dengan konsentrasi sampel uji untuk menghasilkan grafik dengan persamaan regresi linier yang digunakan untuk mencari nilai IC_{50} yaitu konsentrasi senyawa sampel yang dapat menangkal radikal bebas sebesar 50%. Hasil persamaan regresi linier ($y=ax+b$) dan IC_{50} diperoleh setelah menghitung persen inhibisi untuk tiap variasi FB dan FK beserta kombinasinya, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil persamaan regresi linier dan nilai IC_{50} FB, FK dan kombinasinya

Sampel	Persamaan Regresi linier	IC_{50} (mg/L)
FB:FK (1:0)	$y = 0,1494x + 13,703$ $R^2 = 0,9498$	242,95
FB:FK (7:3)	$y = 0,7821x - 1,4486$ $R^2 = 0,9782$	65,78
FB:FK (1:1)	$y = 1,1996x - 0,9636$ $R^2 = 0,999$	42,48
FB:FK (3:7)	$y = 0,4575x + 0,218$ $R^2 = 0,8447$	108,81
FB:FK (0:1)	$y = 0,8734x + 5,0548$ $R^2 = 0,977$	51,46

Nilai IC_{50} yang dihasilkan memiliki arti bahwa pada konsentrasi tersebut sampel uji yang digunakan dapat meredam 50% dari DPPH (Apriliani & Tukiran, 2021). Berdasarkan hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai IC_{50} yang dihasilkan dari kombinasi FB:FK pada rasio (1:0) adalah sebesar 242,95 mg/L termasuk kategori antioksidan sedang karena berada pada rentang 100-250 mg/L (Putri & Hidajati, 2015). Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Kurniawati

et al. (2007) yang menyatakan bahwa nilai IC_{50} dari ekstrak biji kesumba dalam metanol adalah sebesar 548 mg/L, namun lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Souhoka *et al.* (2019) dimana diperoleh IC_{50} ekstrak biji kesumba dalam metanol sebesar 69,425 mg/L.

Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Firdiyani *et al.*, 2015). Adanya perbedaan nilai IC_{50} yang dihasilkan tersebut juga dapat disebabkan oleh faktor pelarut yang digunakan saat ekstraksi berbeda. Pelarut yang digunakan saat proses ekstraksi berpengaruh terhadap konsentrasi senyawa bioaktif seperti antioksidan. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Dawidowicz & Olszowy, 2012) bahwa aktivitas antioksidan dalam menangkal/meredam radikal DPPH dapat bervariasi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi berdasarkan polaritas pelarut.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi perbedaan hasil tersebut karena faktor geografis, faktor genetik, kondisi iklim, asal benih dan tingkat kesuburan tanah yang mempengaruhi kandungan senyawa dalam tanaman (Apriliani & Tukiran, 2021). Kombinasi FB:FK pada rasio (0 :1) memiliki nilai IC_{50} sebesar 51,46 mg/L dan termasuk dalam kategori kuat karena pada rentang 50-100 mg/L (Putri & Hidajati, 2015). Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wahyuningtyas *et al.* (2017) yaitu aktivitas antioksidan kurkumin dari ekstrak kunyit yang diperoleh dalam pelarut etanol adalah sebesar 51,17 mg/L yang termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Hasil pengujian kombinasi FB:FK (1:1) memiliki potensi antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 42,48 mg/L dan termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat karena berada pada rentang dibawah 50 mg/L (Putri & Hidajati, 2015). Kombinasi FB:FK (7:3) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 65,78 mg/L yang termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan kuat, karena berada pada rentang antara 50-100 mg/L (Putri & Hidajati, 2015). Kombinasi FB: FK (3:7) juga memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 108,81 mg/L, namun kekuatan antioksidan termasuk dalam kategori sedang karena berada pada rentang 100-250 mg/L (Putri & Hidajati, 2015).

Kombinasi FB:FK (0:1) menghasilkan nilai IC_{50} lebih kecil dibandingkan dengan FB:FK (1:0) yang menandakan bahwa senyawa kurkumin di dalam fraksi etil asetat kunyit (FK) lebih dominan dalam menangkal radikal bebas daripada bixin di dalam fraksi etil asetat biji kesumba (FB). Semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Zuliani *et al.*, 2019). Perbedaan hasil ini berdasarkan senyawa dan gugus fungsi yang melekat berbeda, sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan berbeda. Hal ini juga dikarenakan kurkumin merupakan senyawa polifenol yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dengan dua cincin benzena

yang masing-masing memiliki gugus hidroksil (OH) dan gugus metoksi (OCH₃) secara simetris (Agnihotri & Mishra, 2011). Dalam molekul kurkumin, gugus OH fenolik yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan, dimana gugus OH fenolik akan mendonorkan atom H, sehingga senyawa DPPH akan tereduksi menjadi senyawa non-radikal yang stabil menjadi DPPH-H (Apriliani & Tukiran, 2021).

Oleh karena itu, kurkumin memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi karena memiliki dua gugus hidroksil yang melekat pada cincin aromatik sehingga kemampuan dalam menangkal radikal bebas lebih besar dari bixin. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian Del Prado-Audelo *et al.* (2019) yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan, menunjukkan bukti bahwa kurkumin dapat menangkal radikal bebas secara langsung oleh kedua bagian fenoliknya. Berdasarkan hasil nilai IC₅₀ yang diperoleh menunjukkan bahwa kombinasi FB:FK pada variasi rasio (1:1) memberikan efek sinergisme bila dikombinasikan, yang artinya penggunaan kedua pigmen tersebut secara bersamaan dengan perbandingan tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari masing-masing pigmen yang dikombinasi dengan nilai IC₅₀ yang dihasilkan adalah sebesar 42,48 mg/L yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat. Menurut Riaminanti *et al.* (2016) sinergisme dapat terjadi ketika campuran dari antioksidan dengan tegas memperlihatkan peningkatan aktivitas antioksidan melebihi dari aktivitas antioksidan ekstrak tunggal.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dari kombinasi fraksi etil asetat biji kesumba (FB) dan fraksi etil asetat kunyit (FK) pada variasi (1 :1) memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yang dihasilkan sebesar 42,48 mg/L dan termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat.

Ucapan terimakasih

Terima kasih kepada Kepala Laboratorium kimia dan Kepala UPT Laboratorium Terpadu Universitas Tanjungpura atas layanan dan penyediaan fasilitas laboratorium.

Daftar Pustaka

- Abdurrahman, N. (2019). Kurkumin Pada *Curcuma longa* Sebagai Tatalaksana Alternatif Kanker. *Jurnal Agromedicine*, 6(2), 410–415.
- Adrianta, K.A. (2020). Aktivitas Antioksidan Daun Magenta (*Peristrophe bivalvis* (L.) Merr) Sebagai Salah Satu Kandidat Pengobatan Bahan Berbasis Herbal Serta Bioaktivitasnya Sebagai Analgetik. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(1), 33–39. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i1.745>
- Agnihotri, N., & Mishra, P.C. (2011). Scavenging Mechanism of Curcumin Toward the Hydroxyl

- Radical: A Theoretical Study of Reactions Producing Ferulic Acid and Vanillin. *Journal Physical Chemistry*, 115, 14221–14232. <https://doi.org/10.1021/jp209318f>
- Albuquerque, C.L.C., L. Santana, Á., & Meireles, M. Angela A. (2015). Thin Layer Chromatographic Analysis of Annatto Extracts Obtained Using Supercritical Fluid. *Food and Public Health*, 5(4), 127–137. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20150504.05>
- Apriliani, N. T., & Tukiran. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kejibeling (*Strobilanthes crispus* L., Blume) dan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. f. Nees) dan Kombinasinya. *Jurnal Kimia Riset*, 6(1), 68–76. <https://doi.org/10.20473/jkr.v6i1.26634>
- Ar Rahmah, A.H. (2019). Efektivitas Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica*) Terhadap Penurunan Risiko Aterosklerosis. *Prev. Jurnal kesehatan Masyarakat*, 10(2), 113–120.
- Barzegar, A. (2012). The Role of Electron-Transfer and H-atom Donation On The Superb Antioxidant Activity and Free Radical Reaction of Curcumin. *Journal Food Chemistry*, 135(2012), 1369–1376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.070>
- Christina, I.A.M., Kencana, I.N., & Permana, I.D.G.M. (2018). Pengaruh Metode Pengeringan dan Jenis Pelarut terhadap Rendemen dan Kadar Kurkumin Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val). *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*, 3(1), 319–324. <https://doi.org/10.24843/jitpa.2018.v03.i02.p02>
- Dawidowicz, A.L., & Olszowy, M. (2012). Mechanism Change In Estimating of Antioxidant Activity of Phenolic Compounds. *Journal Talanta*, 97, 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.036>
- Del Prado-Audelo, M.L., Caballero-Florán, I.H., Meza-Toledo, J.A., Mendoza-Muñoz, N., González-Torres, M., Florán, B., Cortés, H., & Leyva-Gómez, G. (2019). Formulations of Curcumin Nanoparticles for Brain Diseases. *Journal Biomolecules*, 9(56), 1–28. <https://doi.org/10.3390/biom9020056>
- Firdiyani, F., Agustini, T.W., & Ma'ruf, W.F. (2015). Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami Spirulina Platensis Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(1), 28–37. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.1.28>
- Handayani, G.N., Umar, I., & Ismail, I. (2018). Formulasi Dan Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Botto'-Botto' (*Chromolaena odorata* L.) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Kesehatan*, 11(2), 86–90. <https://doi.org/10.24252/kesehatan.v11i2.5944>
- Himawan, H.C., Surjana, V., & Prawira, L. (2012). Karakterisasi Dan Identifikasi Komponen Kimia Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Sebagai Inhibitor Bakteri Patogen. *Fitofarmaka*, 2(2), 116–125.
- Kumar, S. (2005). *Biodiversity & Conservation*. APH Publishing Corporation, Inggris.
- Kumar, S., Jyotirmayee, K., & Sarangi, M. (2013). Thin Layer Chromatography : A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 18(1), 126–132.
- Kurniawati, P., Soetjipto, H., & Limantara, L. (2007). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Pigmen Bixin Selaput Biji Kesumba (*Bixa orellana* L.). *Indonesian Journal of Chemistry*, 7(1), 88–92.
- Maharani, A.B., Destiarti, L., & Rahmalia, W. (2022). The Effect of Cell Surface Area on the Effectivity and Reusability of Bixin Sensitized Solar Cells. *Journal Positron*, 12(1), 39–48. <https://doi.org/10.26418/positron.v12i1.53409>
- Naselia, U.A., Septiani, Silalahi, I.H., & Rahmalia, W. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Pigmen Bixin dari Tanaman Kesumba (*Bixa orellana* L.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(3), 53–61.
- Putri, A.A.S., & Hidajati, N. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*). *UNESA Journal of Chemistry*, 4(1), 37–42.
- Rahmalia, W., Fabre, J.F., Usman, T., & Mouloungui, Z. (2014). Aprotic Solvents Effect On The UV-visible Absorption Spectra of Bixin. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular*

- Spectroscopy*, 131(2014), 455–460. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.03.119>
- Rahmalia, W., & Naselia, U.A. (2021). Transition Energy, Spectral Fine Structure, and Absorption Coefficient of Norbixin (9'-cis-6,6'-diapocarotene-6,6'dioic acid) in Different Polar Solvents. *Journal of Physics: Conference Series*, 1751(2021), 1–10. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1751/1/012085>
- Rahmalia, W., Septiani, Naselia, U.A., Usman, T., Silalahi, I.H., & Mouloungui, Z. (2021). Performance Improvements of Bixin and Metal-Bixin Complexes Sensitized Solar Cells by 1-Methyl-3-propylimidazolium Iodide in Electrolyte System. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(3), 669–678. <https://doi.org/10.22146/ijc.60633>
- Rahmi, H. (2017). Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-Buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(1), 34–38. <https://doi.org/10.33661/jai.v2i1.721>
- Riaminanti, N.K., Hartiati, A., & Mulyani, S. (2016). Studi Kapasitas dan Sinergisme Antioksidan pada Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica*) dan Daun Asam (*Tamarindus indica* L.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 4(3), 93–104.
- Rikantara, F.S., Utami, M.R., & Kasasiah, A. (2022). Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode DPPH. Lumbung Farm. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 124–133.
- Septiawan, A.N., Emelda, E., & Husein, S. (2020). Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) dan Ganggang Hijau (*Ulva lactuca* L.). *Journal Indonesian Pharmacy and Natural Medicine*, 4(1), 11–24. <https://doi.org/10.21927/inpharmmed.v4i1.1601>
- Souhoka, F.A., Hattu, N., & Huliselan, M. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* L.). *Indonesian Journal Chemistry Research*, 7(1), 25–31. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2019.7-fas>
- Suharsanti, R., Astutiningsih, C., & Susilowati, N.D. (2020). Kadar Kurkumin Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Secara KLT Densitometri Dengan Perbedaan Metode Ekstraksi. *Jurnal Wiyata*, 7(2), 86–93.
- Van Nong, H., Hung, L.X., Thang, P.N., Chinh, V.D., Vu, L. Van, Dung, P.T., Van Trung, T., & Nga, P.T. (2016). Fabrication and Vibration Characterization of Curcumin Extracted From Turmeric (*Curcuma longa*) Rhizomes of The Northern Vietnam. *Springerplus*, 5(1147), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2812-2>
- Wahyuningtyas, S.E.P., Permana, I.D.G.M., & Wiadnyani, A.S. (2017). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Kurkumin dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). *Jurnal ITEPA*, 6(2), 61–70.
- Zuliani, N.E., Erwin, & Kusuma, I.W. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH) Ekstrak Metanol dan Fraksi - Fraksinya dari Daun Rumpuk Knop (*Hyptis capitata* Jacq.). *Jurnal Atomik*, 4(1), 36–40.



Begonia medicinalis: a review of phytochemistry and pharmacology

Levana Velincia Tanriono¹, Farida Hayati^{2*}, Muhammad Sulaiman Zubair³

^{1,2} Department of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

³ Department of Pharmacy, Faculty of Sciences, Tadulako University, Kampus Bumi Tadulako, Palu, Indonesia

*Corresponding author: farida.hayati@uui.ac.id

Abstract

Background: *Begonia medicinalis*, often referred to as benalu batu, is a plant belonging to the Begoniaceae family. It is renowned for its wide range of pharmacological activities and its extensive application in the treatment of many diseases. Saponins, tannins, flavonoids, phenolics, steroids, alkaloids, and triterpenoids are some of the chemical compounds in this plant responsible for its pharmacological activity.

Objective: The aim of this review is to provide information about the phytochemical and pharmacological properties of *B. medicinalis*.

Method: This narrative review was performed by conducting literature searches on various relevant reputable online databases, and there were 17 articles that discussed the phytochemistry and pharmacology activity of *B. medicinalis*.

Results: People have long used *B. medicinalis* as a test treatment for a variety of diseases. Flavanols, 2-O- β -glucopyranosyl cucurbitan D, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside, and 9(11) α ,16(17) α -dioxirane-20,25-dihydroxy- β -sitosterol-3-O- β -glucopyranoside are among the compounds found in the plant. Studies have demonstrated the immunomodulatory, anticancer, antiviral, and antioxidant activity of this plant. *In vitro* toxicity tests revealed that this plant is toxic and has anticancer potential. The *in vivo* toxicity test revealed that this plant has mild toxicity.

Conclusion: This study suggests that *B. medicinalis* has strong potential for future development into herbal medicine.

Keywords: *Begonia medicinalis*, *Begonia sp.*, pharmacological, phytochemical

1. Introduction

Since the beginning of time, people have used plants as medicine. According to the World Health Organization (WHO), 80% of the world's population uses herbal medicines for health care. While the third-largest potential producer of medicinal plants in the world is Indonesia (Affandi & Batubara, 2019). With approximately 1870 species found worldwide, including in Indonesia, the Begoniaceae is the sixth-largest flowering plant genus (Moonlight *et al.*, 2018). About ten plant species from this family have been studied for their chemical compounds and pharmacological activities (Zubair *et al.*, 2020).

Benalu batu (*Begonia medicinalis*) is a species of the Begoniaceae family, particularly endemic to the Morowali district, Central Sulawesi, Indonesia. Based on previous studies of phytochemical identification, it contains saponins, tannins, flavonoids, polyphenols, alkaloids, steroidal glycosides, and pentacyclic triterpenoids (Anam *et al.*, 2014; Khumaidi *et al.*, 2020; Zubair *et al.*, 2016). People in communities use *B. medicinalis* to treat diseases such as cancer,

diabetes, dry cough, fever, gout, kidney, laxatives, tumors, ulcers, urinary stones, worms, and others (Anam *et al.*, 2014; Ardi *et al.*, 2019; Herik, 2009; Zubair *et al.*, 2020).

The pharmacological activities of this plant have also been reported, such as immunomodulatory (Syamsidi *et al.*, 2023; Zubair, *et al.*, 2022a; Zubair, *et al.*, 2022b), cytotoxic (Anam *et al.*, 2014; Prihardina & Fatmawati, 2021; Zubair *et al.*, 2020), antiviral, antioxidant activity (Zubair *et al.*, 2021), and the ability to reduce blood sugar and creatinine levels in the blood (Alaydrus, 2020; Tandi *et al.*, 2020). In addition, a toxicity study *in vivo* resulted in a high LD₅₀ value corresponding to safety profile (Putra, 2020). Thus, this study briefly highlighted recent scientific discoveries and provided a list of subjects requiring further research.

2. Method

This article reviewed research on the phytochemical and Pharmacological data of *B. medicinalis*, focusing on important information related to chemical composition, pharmacological studies, mechanisms of action, and toxicology. This narrative review was carried out by conducting literature searches on various journal websites, such as Google Scholar, PubMed, Science Direct, Web of Science, and others, and then tailoring the results to the research title, abstract, and keywords. For example, "*Begonia medicinalis*," "*Begonia sp.*," "phytochemistry," and "pharmacology" are the keywords used. As long as the published data is relevant to this review, there is no time limit for research in this article. The collected literature was then analyzed based on each study's methods, samples, results, and conclusions.

3. Result and discussion

3.1 Plant description

Begonia medicinalis (Figure 1) is a species in the Begoniaceae family. The word "medicinalis" refers to the use of this plant as a traditional medicine in Central Sulawesi. This plant, also known as Polohi Wasu, is an endemic plant found in Wawopada village, Morowali district, Central Sulawesi. It grows in shady and humid areas between large rocks because of its habitat in the primary tropical rainforest at 700 m above sea level. *B. medicinalis* is a perennial, monocotyledonous, erect, up to 30 cm tall, with a dense multicellular indumentum, trichomes up to 2 mm in size, and microscopic glandular hairs on stems and leaves. The stems branched with internodes 2–5 cm long and brownish. Leaves are pale green and elliptical, with a slightly

protruding midrib and an acuminate apex up to 5 mm long. Flowers are a protogynous compound. Female flowers compound with one male basal node; two-flowered or solitary female flowers; peduncle 1-5 mm long; hairy. Fruit stalks are 1–5 mm long, and unknown seed (Ardi *et al.*, 2019).

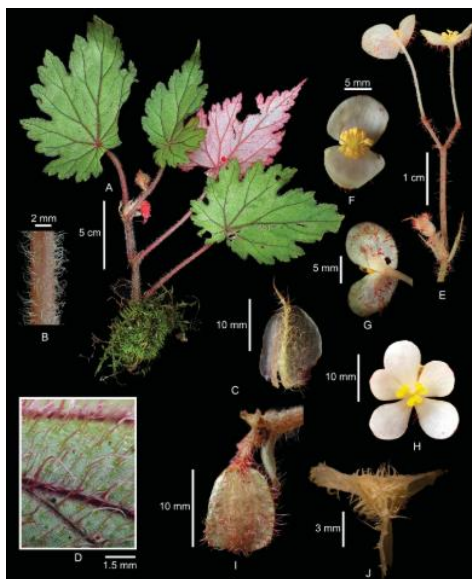


Figure 1. *Begonia medicinalis* (Ardi *et al.*, 2019)

3.2 Traditional use

B. medicinalis is a multipurpose plant that has been used for centuries to treat diseases such as asthma, cancer, diabetes, dry cough, fever, gout, goiter, irregular menstruation, kidney, laxatives, lumbago, malaria, paralysis symptoms, rheumatism, tuberculosis, tumors, ulcers, urinary stones, worms, and others. Its use is effortlessly boiling it in 1 liter concentrated into one glass of water, cooling, and consuming it. The content of each recipe consists of seven sticks of *B. medicinalis*, which can be boiled up to three times. The type of application is customized according to the physical condition. For patients who are physically weak, it is recommended to drink 1/3 cup in the morning, 1/3 cup at midday and 1/3 cup in the afternoon (Anam *et al.*, 2014; Ardi *et al.*, 2019; Herik, 2009; Nurlansi *et al.*, 2015).

3.3 Phytochemical compounds

Research on the active compounds of plants is essential for drug discovery and development of new treatments to address important diseases due to their biological activity.

A similar genus of *Begonia* exhibits a similar class of natural product compounds to those found in *B. medicinalis*. Plants of *Begonia* species contain alkaloid compounds, flavonoid glycosides, pentacyclic triterpenes, tetracyclic triterpenes, tetracyclic triterpenoid glycosides, and steroid glycosides (Zubair *et al.*, 2016). Based on phytochemical testing, *B. medicinalis* contains phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, and polyphenols (Anam *et al.*, 2014; Tandi *et al.*, 2020). The compound 2-O- β -glucopyranosil cucurbitacin D (Figure 2a is present in the ethyl acetate fraction of *Begonia sp.* based on the isolation and structure elucidation of terpenoid glycoside compounds (Zubair *et al.*, 2020). Ultraviolet-Visible spectroscopy results using methanol as the solvent show that the *B. medicinalis* fraction isolate exhibits similar spectra to flavonoid compounds, with peak 1 spectral peak at 275 nm and peak 2 spectral peaks at 225 nm. The flavonoid compounds in the *B. medicinalis* fraction exhibited similarities with flavan-3-ol (Figure 2b) or flavanol absorption peaks based on these wavelengths (Ritna *et al.*, 2016). Other research using mass spectroscopy revealed that the ethyl acetate fraction yielded the discovery of two new steroid glycosides, namely β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside (Figure 2c) and 9(11) α ,16(17) α -dioxirane-20,25-dihydroxy- β -sitosterol-3-O- β -glucopyranoside (Figure 2d) (Zubair *et al.*, 2019).

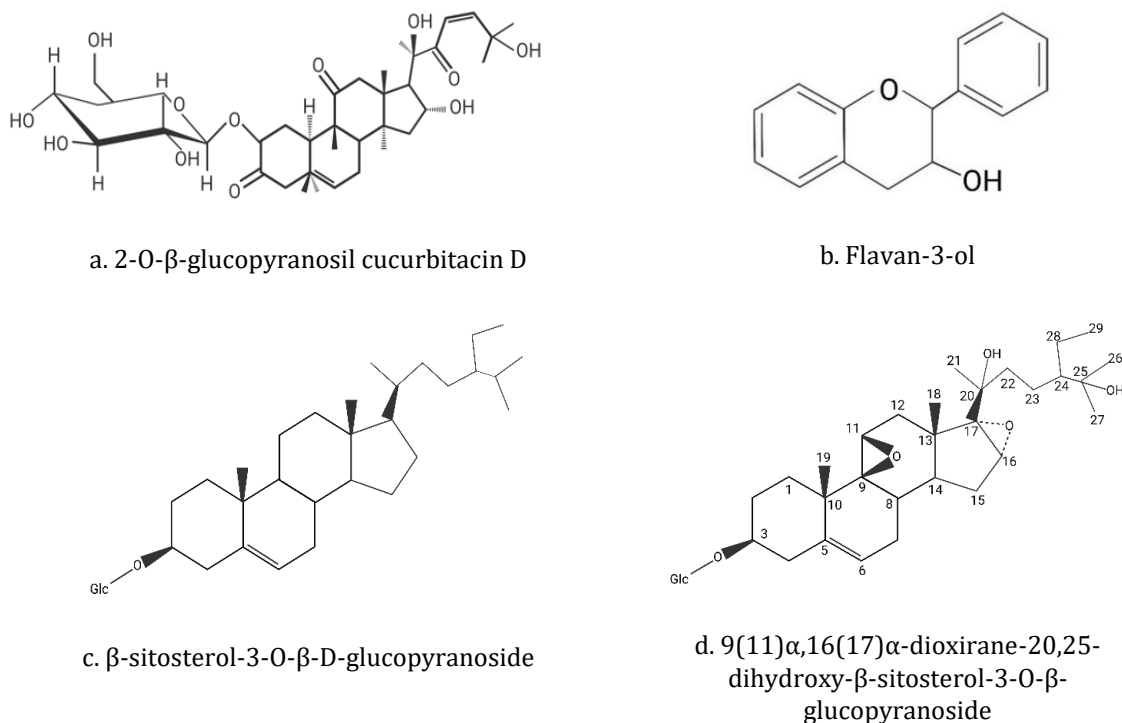


Figure 2. Chemical structures of *B. medicinalis* (figure was reconstructed by BioRender)

3.4 Pharmacology

Several pharmacological actions of *B. medicinalis* have been reported in various studies, both *in vivo* and *in vitro*. There are 11 researchs articles that have reported its pharmacological activities including anticancer, antiviral, antioxidant, immunomodulator, and antidiabetic. In addition, *in vivo* acute toxicity experiments were conducted to evaluate the safety of *B. medicinalis*. Table 1 summarizes some investigations into the pharmacological activities of *B. medicinalis*.

Table 1. Pharmacological activities of *B. medicinalis*

Pharmacological activity	Model/cell lines	Samples	Activity/mechanism(s) of action	Reference
Immunomodulatory effect	<i>Staphylococcus aureus</i> -infected mice and rats	<i>B. medicinalis</i> ethanol extract	Activates macrophage phagocytosis and increases TNF- α and IFN- α cytokine production	(Zubair, <i>et al.</i> , 2022a)
	<i>Staphylococcus aureus</i> -infected rats	Combination ethanol extract of <i>B. medicinalis</i> and <i>M. oleifera</i>	Activates macrophage phagocytic activity and increases IFN- γ /TNF- α cytokine levels	(Zubair, <i>et al.</i> , 2022b)
	Lymphocytes from Mice	N-hexane fraction, ethyl acetate fraction, methanol extract, and water fraction of <i>B. medicinalis</i>	Increased lymphocyte cell proliferation	(Khumaidi <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Drosophila melanogaster</i>	Dried <i>B. medicinalis</i> ethanolic extract	Modulate the expression of Drs (Toll pathway), Dpt (Imd pathway), and TotA in <i>D. melanogaster</i> (JAK-STAT pathway)	(Syamsidi <i>et al.</i> , 2023)
Anticancer	HeLa and T47D cells	<i>Begonia sp.</i> methanol extract	Growth inhibitory on HeLa cells and T47D cells.	(Anam <i>et al.</i> , 2014)
	MCF-7 and HCT-116 cells	2-o- β -glucopyranosil cucurbitacin D isolated from the ethyl acetate fraction of <i>Begonia sp.</i>	Induced apoptosis in MCF-7 and HCT-116 cells	(Zubair <i>et al.</i> , 2020)
	Hela, MDA-MB, and HT-29 cells	<i>B. medicinalis</i> leaf and stem extracts	Potential to treat cancer	(Prihardina & Fatmawati, 2021)
	<i>Artemia salina</i>	Methanol extract, n-hexane fraction,	Inhibit the growth of <i>A. salina</i>	(Nurlansi <i>et al.</i> , 2015)

Pharmacological activity	Model/cell lines	Samples	Activity/mechanism(s) of action	Reference
		ethyl acetate fraction, and water fraction of <i>B. medicinalis</i>		
Antiviral and Antioxidant activity	HIV-1-infected MT-4 cells DPPH radical scavenging assay	N-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of <i>B. medicinalis</i>	Inhibits the cytopathic effect of the virus and inhibited free radical reactions	(Zubair <i>et al.</i> , 2021)
Antidiabetic	Streptozotocin-induced rats	Ethanol extract of <i>B. medicinalis</i> leaves	Lowers blood creatinine levels but does not effect on urea levels	(Alaydrus, 2020)
	Streptozotocin-induced rats	Ethanol extract of <i>B. medicinalis</i> leaves	Reduces blood glucose levels	(Tandi <i>et al.</i> , 2020)

3.5 Immunomodulatory activity

The immunomodulatory activity of *B. medicinalis* ethanol extract in male Wistar rats revealed that increasing the dose to 240 mg/kg BW increased macrophage phagocytic activity and TNF- and IFN- cytokine expression. The immunostimulatory activity was attributed to an ethanol extract of *B. medicinalis* that contained high concentrations of total saponins, total phenols, and total flavonoids (Zubair, *et al.*, 2022a). Saponins interact with Antigen-presenting cells (APCs) to increase the production of immunostimulants such as interleukins and interferon. Saponins promote T-lymphocyte proliferation, IL-1, IL-2, IL-12, IFN- γ , and TNF- α expression, while inhibiting macrophage phagocytic activity (Bhardwaj *et al.*, 2014; Francis *et al.*, 2002; Setiawan & Nugraha, 2016). Phenolic compounds can act as antioxidants, preventing free radical formation and thus developing oxidation reactions. Monocytes exposed to antioxidant compounds can keep their cell shape, allowing them to carry out their phagocytic function actively. Phenolic compounds have also been shown to activate T cells and boost NK cell killing capacity (Kilani-Jaziri *et al.*, 2017; Pancawari Ariami *et al.*, 2021). Flavonoids have been shown to increase IL-2 production and lymphocyte proliferation, influencing CD4+ cells and activating Th1 cells (Figure 3). Th1 cell activation influences macrophage-activating factors as well. Flavonoids also stimulate the production of TNF and IFN by NK cells (Martínez *et al.*, 2019; Sholikhah & Rahayuningsih, 2015). The immunomodulatory activity of a combination of *B. medicinalis* and *M. oleifera* extracts was also investigated. The combination of extracts

100:100 mg/kg BW has immunomodulatory activity based on macrophage phagocytosis activity and IFN- and TNF- levels (Zubair, *et al.*, 2022b). *B. medicinalis* extracts in methanol, n-hexane, ethyl acetate, and aqueous fraction showed increased lymphocyte cell proliferation (immunostimulant), but none inhibited lymphocyte cell proliferation. The highest stimulation index was found in extracts and fractions with a concentration of 100 g/ml (Khumaidi *et al.*, 2020). Using gene expression in the Toll, Imd, and JAK-STAT pathways, researchers investigated the immunomodulatory effects of dried *B. medicinalis* extract (DBME) in the *Drosophila melanogaster* model. The survival and locomotor phenotypes of *D. melanogaster* were examined to see if changes in gene expression could be detected at the phenotypic level. DBME was found to induce humoral immune responses in *D. melanogaster* without causing significant phenotypic trade-offs (Syamsidi *et al.*, 2023).

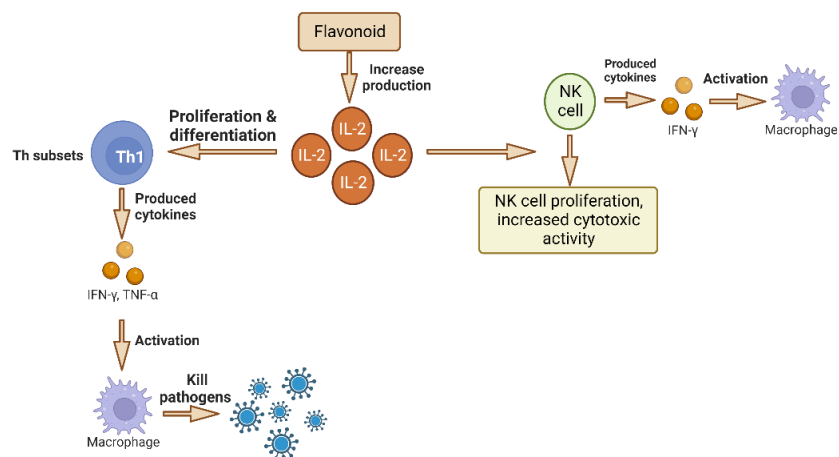


Figure 3. Mechanism of flavonoid action as an immunostimulant (created by BioRender)

3.6 Cytotoxic and anti-cancer activity

The extract of *B. medicinalis* has been confirmed to inhibit the growth of *A. salina* (Nurlansi *et al.*, 2015). Furthermore, its methanol extract inhibited the growth of HeLa cells more than T47D cells in the anticancer activity assay. Analysis of the extract's chemical compounds using thin-layer chromatography (TLC) showed that the polyphenol-flavonoid group was involved in the anticancer effect (Anam *et al.*, 2014). By controlling the activity of the enzymes that produce reactive oxygen species (ROS), triggering apoptosis, and contributing to cell cycle arrest, flavonoids have been demonstrated to inhibit the proliferation and invasion

of cancer cells. Under normal circumstances, flavonoids has a function as antioxidants in ROS equilibrium, but in cancer cells, flavonoids are potent pro-oxidants that upregulate pro-inflammatory signaling pathways and activate apoptotic pathways (Kopustinskiene *et al.*, 2020; Slika *et al.*, 2022). Moreover, The cytotoxic activity of *B. medicinalis* against human colorectal colon cancer (HCT-116) and human breast adenocarcinoma (MCF-7) suggested that 2-O- β -glucopyranosyl cucurbitacin D possess cytotoxic effects via inducing apoptosis cells (Zubair *et al.*, 2020). Using the MTT assay, the anticancer activity of *B. medicinalis* extracts from leaves and stems was investigated in three different cell lines, including Hela, MDA-MB, and HT-29. The leaf extract had higher total flavonoid content (TFC) than the stem extract. This finding suggest that there is potential to treat cancer with both extracts (Prihardina & Fatmawati, 2021).

3.7 Antiviral and antioxidant activity

Antioxidant and antiviral activity tests revealed that all fractions had potential activity. The *B. medicinalis* n-hexane fraction exhibited the highest antiviral activity in HIV-infected MT-4 cells. Based on GC-MS analysis, the n-hexane fraction contained phenolic compounds (8.38%) and the primary compound carboxylic acid derivative with a percentage area of 76.4%, which are believed to be the primary bioactive chemicals in charge of the antioxidant and antiviral effects. The aqueous fraction (10.05%) had a higher content of terpenoids than the other fractions (Zubair *et al.*, 2021).

3.8 Antidiabetic activity

In streptozotocin-induced rats, ethanolic extract of begonia leaves (*Begonia sp.*) at a dose of 50 mg/kg BW effectively reduced blood glucose levels (101.8 ± 20.7 mg/dL). Histopathological studies of the pancreas revealed that *B. medicinalis* extract had no effect on regenerating pancreatic beta cells. This is also because, in general, injured organs are very difficult to restore to normal function, and natural substances have a weak and slow pharmacological impact, requiring a relatively lengthy period to have an effect when compared to artificial medications. The results of histological examination of organs using *B. medicinalis* extract are nearly identical to the results of the drug glibenclamide (the differences are not statistically significant). This is due to the fact that the medicine glibenclamide has a mechanism

of action that stimulates insulin secretion, therefore, it can only lower blood glucose levels but cannot repair pancreatic beta cells (Tandi *et al.*, 2020). Even though it did not impacting the urea levels on rat, it also decreased the blood creatinine level at a dose of 100 mg/kg BW, even though it did not affecting the urea levels on rat (Alaydrus, 2020).

3.9 Toxicity study

The toxicity study of *B. medicinalis* is still limited. Only one paper described its acute toxicity profile. The ethanolic extract of *B. medicinalis* was administered to female Wistar rats at various dose levels. At the highest dose, toxicity symptoms were observed, including increased grooming and decreased motor activity. Meanwhile, the LD₅₀ of an ethanol extract of *B. medicinalis* herb was 1600 mg/200 g BW, which is classified as mild toxicity by the Indonesia Food and Drug Administration (BPOM) test preparation classification criteria (Putra, 2020).

4. Conclusions

B. medicinalis has long been used as a test treatment for a variety of diseases. Flavanols, 2-O-β-glucopyranosyl cucurbitacin D,β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside, and 9(11)α,16(17)α-dioxirane-20,25-dihydroxy-β-sitosterol-3-O-β-glucopyranoside are among the compounds found in the plant. Through various studies that have been conducted, it has been shown that this plant has immunomodulatory, cytotoxic, antiviral, and antioxidant activity, as well as the ability to lower blood sugar and creatinine levels. *In vitro* toxicity tests revealed that this plant is toxic and thus has anticancer potential. The *in vivo* toxicity test revealed that this plant has mild toxicity. However, research into this plant is still in its early stages. More specific research on the content of certain chemical compounds contained in this plant is required to determine which compound causes the pharmacological activity. It is critical to conduct research on the pharmacological activities of unknown plants in order to develop herbal medicinal preparations that can be used to treat diseases all over the world.

Acknowledgements

Author acknowledge The Institute for Research and Community Service, Tadulako University, for the Domestic Cooperation Grant in 2023 (No. 1462.a/UN28.2/PL/2023) and the Magister of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia, for the support in this paper.

References

- Affandi, O., & Batubara, R. (2019). Study of Medicinal Plant Used By The Ethnic Community of Karo Around Lau Debuk-Debuk Tourism Park, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 374(2019), 1-8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/374/1/012055>
- Alaydrus, S. (2020). Uji Efek Etanol Daun Benalu Batu Terhadap Kreatinin Ureum Tikus Putih Jantan Diinduksi Streptozotocin. *SCIENTIA : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 10(1), 33-39.
- Anam, S., Yuliet, Ritna, A., Dwimurti, F., Rismayanti, D., & Zubair, M. S. (2014). Cytotoxic Activity of Benalu Batu (*Begonia* sp.) Methanolic Extract: An Ethnomedicine of Wana Tribe Central Sulawesi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(1), 10-16. <http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/jifi/article/view/176>
- Ardi, W. H., Zubair, M. S., Ramadanil, & Thomas, D. C. (2019). *Begonia Medicinalis* (Begoniaceae), A New Species From Sulawesi, Indonesia. *Phytotaxa*, 423(1), 41-45. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.423.1.5>
- Bhardwaj, J., Chaudhary, N., Seo, H. J., Kim, M. Y., Shin, T. S., & Kim, J. D. (2014). Immunomodulatory Effect of Tea Saponin In Immune T-cells and T-lymphoma Cells Via Regulation of Th1, Th2 Immune Response and MAPK/ERK2 Signaling Pathway. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 36(3), 202-210. <https://doi.org/10.3109/08923973.2014.909849>
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2002). The Biological Action Of Saponins In Animal Systems: A Review. *British Journal of Nutrition*, 88(6), 587-605. <https://doi.org/10.1079/bjn2002725>
- Herik, N. (2009). Sistem Pengetahuan dan Pemanfaatan Benalu Batu (*Polohi wasu*) Pada Masyarakat Desa Wawopada Kecamatan Lembo Kabupaten Morowali. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Sosial Dan Ilmu Politik, Universitas Tadulako.
- Khumaidi, A., Widodo, A., Nugrahani, A. W., Sasmito, E., & Fakhrudin, N. (2020). Profil Proliferasi Sel Limfosit Benalu Batu (*Begonia medicinalis*) Asal Kabupaten Morowali Utara Provinsi Sulawesi Tengah. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(1), 61-67.
- Kilani-Jaziri, S., Mokdad-Bzeouich, I., Krifa, M., Nasr, N., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2017). Immunomodulatory and Cellular Anti-Oxidant Activities of Caffeic, Ferulic, and P-Coumaric Phenolic Acids: A Structure-Activity Relationship Study. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(4), 416-424. <https://doi.org/10.1080/01480545.2016.1252919>
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids As Anticancer Agents. *Nutrients*, 12(2), 1-25. <https://doi.org/10.3390/nu12020457>
- Martínez, G., Mijares, M. R., & De Sanctis, J. B. (2019). Effects of Flavonoids and Its Derivatives on Immune Cell Responses. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 13(2), 84-104. <https://doi.org/10.2174/1872213x13666190426164124>
- Moonlight, P.W., Ardi, W.H., Padilla, L.A., Chung, K., Fuller, D., Girmansyah, D., Hollands, R., Jara-Muñoz, A., Kiew, R., Leong, W., Liu, Y., Mahardika, A., Marasinghe, L.D.K., O'Connor, M., Peng, C., Pérez, Á.J., Phutthai, T., Pullan, M., Rajbhandary, S., Reynel, C., Rubite, R.R., Sang, J., Scherberich, D., Shui, Y., Tebbitt, M.C., Thomas, D.C., Wilson, H.P., Zaini, N.H. and Hughes, M. (2018). Dividing and Conquering The Fastest-Growing Genus: Towards A Natural Sectional Classification of The Mega-Diverse Genus *Begonia* (Begoniaceae). *Taxon*, 67(2), 267-323. <https://doi.org/10.12705/672.3>
- Nurlansi, Nasruddin, & Sari, F. (2015). Uji Toksisitas Senyawa Bioaktif Tumbuhan Polohi Wasu (*Begonia* sp.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*,

- 1(3), 138–145.
- Pancawari Ariami, Addien Faqih Pajenengan, & Maruni Wiwin Diarti, W. (2021). Imunostimulator Ekstrak Etanol Anredera Cordifolia Terhadap Titer Widal *Salmonella typhi* O Pada *Rattus Norvergicus* Galur Wistar. *Poltekita : Jurnal Ilmu Kesehatan*, 15(1), 12–18. <https://doi.org/10.33860/jik.v15i1.413>
- Prihardina, B., & Fatmawati, S. (2021). Cytotoxicity of *Begonia medicinalis* Aqueous Extract In Three Cancer Cell Line. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 913(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/913/1/012084>
- Putra, D. R. (2020). Uji Toksisitas Akut (LD50) Ekstrak Etanol Daun Benalu Batu (*Begonia medicinalis*) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). *Skripsi*. Universitas Tadulako.
- Ritna, A., Anam, S., & Khumaidi, A. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* sp.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 2(2), 83–89. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2016.v2.i2.5957>
- Setiawan, H., & Nugraha, J. (2016). Analisis Kadar IFN- γ dan IL-10 pada PBMC Penderita Tuberkulosis Aktif, Laten dan Orang Sehat, Setelah di Stimulasi dengan Antigen ESAT-6. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(1), 50–66.
- Sholikhah, A. R., & Rahayuningsih, H. M. (2015). Pengaruh Ekstrak Lompong (*Colocasia esculenta* L. Schoot) 30 Menit Pengukusan Terhadap Aktivitas Fago Sitosis Dan Kadar No (Nitrit Oksida) Mencit *Balb/C* Sebelum Dan Sesudah Terinfeksi *Listeria Monocytogenes*. *Journal of Nutrition College*, 4(4), 463–468. <https://doi.org/10.14710/jnc.v4i4.10148>
- Slika, H., Mansour, H., Wehbe, N., Nasser, S. A., Iratni, R., Nasrallah, G., Shaito, A., Ghaddar, T., Kobeissy, F., & Eid, A. H. (2022). Therapeutic Potential of Flavonoids In Cancer: ROS-Mediated Mechanisms. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 146(2022), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112442>
- Syamsidi, A., Rosa, R.A., Sulastri, E., Rahmah, N., Kamri, R.A., Rumata, N.R., Emran, T. Bin, Sharma, R., Rabaan, A.A., Nainu, F., Zubair, M.S. (2023). Immunomodulatory Effect of *Begonia Medicinalis* Ethanolic Extract in *Drosophila*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13, 1–9. <https://doi.org/10.33263/BRIAC136.558>
- Tandi, J., Paerunan, D. E., Kenta, Y. S., Mulyani, S., Studi, P., Kimia, P., & Tadulako, U. (2020). Uji Potensi Ekstrak Daun Benalu Batu (*Begonia* sp) Terhadap Kadar Glukosa Dalam Darah Dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 286–298.
- Zubair, M. S., Alarif, W. M., Ghandourah, M. A., & Anam, S. (2019). A New Steroid Glycoside From *Begonia* sp.: Cytotoxic Activity and Docking Studies. *Natural Product Research*, 35(13), 1–8. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1669026>
- Zubair, M. S., Alarif, W. M., Ghandourah, M. A., Anam, S., & Jantan, I. (2020). Cytotoxic Activity of 2-o- β -Glucopyranosil Cucurbitacin D From Benalu Batu (*Begonia* sp.) Growing in Morowali, Central Sulawesi. *Indonesian Journal of Chemistry*, 20(4), 766–772. <https://doi.org/10.22146/ijc.43626>
- Zubair, M. S., Anam, S., Khumaidi, A., Susanto, Y., Hidayat, M., & Ridhay, A. (2016). Molecular Docking Approach To Identify Potential Anticancer Compounds From *Begonia* (*Begonia* sp). *AIP Conference Proceedings*, 1755(July 2016). <https://doi.org/10.1063/1.4958513>
- Zubair, M. S., Khairunisa, S. Q., Sulastri, E., Ihwan, Widodo, A., Nasronudin, & Pitopang, R. (2021). Antioxidant and Antiviral Potency of *Begonia medicinalis* Fractions. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 32(4), 845–851.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0476>

Zubair, M. S., Syamsidi, A., Ihwan, Sulastri, E., Idris, Rahman, A., Widyasari, N., Sanjaya, I. P., & Pakaya, D. (2022a). Immunomodulatory Activity of *Begonia medicinalis* Ethanolic Extract in Experimental Animals. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 33(4), 1–8.

Zubair, M. S., Syamsidi, A., Sulastri, E., Pakaya, D., Asita, N., Tanriono, L. V., & Poluan, J. C. (2022b). Immunomodulatory Effects of Combined Ethanolic Extracts of *Begonia medicinalis* and *Moringa oleifera* in Wistar Rats Infected with *Staphylococcus aureus*. *Malaysian Journal of Chemistry*, 24(4), 144–149.



Anticancer chemotherapies targeting Wnt/ β -catenin signaling pathway: a review on molecular insights

Thi-Quynh-Huong Nguyen¹, Thi-Kieu-Trinh Tran², Vu-Quynh-Nhu Nguyen², Thuy-Loc Pham², Thi-Thuy Nguyen², Thi-Kieu-Diem Ngo², Thi-Tram Vu³, Thi-Phuong-Thao Pham⁴, Hai-Anh Ha^{5,6,*}

¹Pharmacy Department, Phuc Hung Private General Hospital, Quang Ngai, 570000, Vietnam

²K24YDH3 - College of Medicine and Pharmacy - Duy Tan University, Danang, 550000, Vietnam

³Faculty of Pharmacy – Hoa Binh University, Ha Noi, 100000, Vietnam

⁴Research and Development Department, Herbitech technology Co., Ltd, Ha Noi, 100000, Vietnam

⁵Faculty of Pharmacy - College of Medicine and Pharmacy - Duy Tan University, Danang City, 550000, Vietnam

⁶Da Nang Pharmaceutical Association, Da Nang, 550000, Vietnam

*Corresponding author: hahaianh@dtu.edu.vn

Abstract

Background: The Wnt/ β -catenin signaling pathway, a highly conserved signaling axis involved in diverse physiological processes such as proliferation, differentiation, apoptosis, migration, invasion, and homeostasis balance, has been implicated in human cancer development and progression. Notably, various cancer types, such as colorectal cancer, hepatocellular carcinoma, melanoma, thyroid cancer, desmoid tumors, ovarian tumors, and multiple myeloma, have demonstrated associations with specific Wnt-activating mutations, emphasizing the widespread influence of the Wnt pathway in diverse malignancies.

Objective: This review highlights the inhibitors targeting the Wnt ligand-receptor interface, focusing on their preclinical and clinical evaluations in various cancer types. Additionally, we explore small-molecule design strategies, focusing on inhibitors of β -catenin, GSK-3, and Porcupine.

Method: Conducted as a narrative review, we collected and analyzed relevant papers from PubMed/Google Scholar and clinical trials associated with Wnt pathway inhibitors from clinicaltrial.gov. A total of 61 papers and 24 clinical trials were reviewed, providing an overview of the molecular insights within the research landscape of this field.

Result: Dysregulated Wnt/ β -catenin signaling is implicated in the progression of several solid tumors and hematological malignancies, highlighting the urgent need for targeted anticancer interventions. Our discussion on the inhibitors targeting the Wnt ligand-receptor interface highlights promising outcomes in both preclinical and clinical settings. This paper also presents the chemical structures of these compounds, detailing their interactions with key Wnt signaling components and their potential to disrupt aberrant signaling. The strategies for small-molecule design targeting the Wnt signal are discussed, highlighting inhibitors targeting β -catenin, GSK-3, and Porcupine. The complex chemical structures of these compounds are elucidated, showcasing their specific interactions with key components of the Wnt signaling pathway and their potential to disrupt aberrant Wnt signaling in diverse cancer types. The emerging directions and future prospects in Wnt pathway research demonstrate the importance of utilizing big data and artificial intelligence for drug development.

Conclusion: The review delves into the potential inhibition of the disheveled protein as a promising target for cancer therapy, proposing novel molecular design strategies based on recent discoveries.

Keywords: Wnt signaling pathway, β -catenin inhibitors, GSK-3 inhibitors, porcupine inhibitors, Disheveled protein inhibitors

1. Introduction

The Wnt/ β -catenin signaling pathway, a crucial cascade in various physiological processes, is implicated in cancer development and progression. In particular, Wnt pathway

plays a critical role in cell proliferation, differentiation, apoptosis, migration, invasion, and maintenance of tissue homeostasis (Choi *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022; Salik *et al.*, 2020; Soleas *et al.*, 2020). Increasing evidence suggests that dysregulated Wnt/ β -catenin signaling contributes significantly to the development and progression of several solid tumors and hematological malignancies (Cao *et al.*, 2018; Gajos-Michniewicz & Czyz, 2020; He & Tang, 2020; Zhang *et al.*, 2018). This review focuses on the molecular aspects of the Wnt signaling pathway, its role in carcinogenesis, and the development of small-molecule drugs to target this pathway for anticancer therapies.

2. Method

This study employed a narrative review methodology, as previously described (Snyder, 2019). We collected and scrutinized relevant literature sourced from PubMed and Google Scholar indexed publications pertaining to the Wnt pathway, specifically focusing on small molecule inhibitors. Furthermore, clinical trials associated with these inhibitors were checked on clinicaltrial.gov. Our analysis incorporated 61 scientific articles and 24 clinical trials, providing an overview of the molecular insights within the research landscape of this field.

3. Result and discussion

3.1. Mutations activating the Wnt pathway drive cancer development and persistence

The Wnt pathway plays a critical role at various stages of tumor progression. Notably, mutations in the *APC* gene have been identified as a focal point, accounting for approximately 80% of colorectal cancers (Flanagan *et al.*, 2019; Huong *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). Moreover, a multitude of cancer types exhibit Wnt-activating mutations, including hepatocellular carcinoma with *CTNNB1* and *AXIN1/2* mutations, and melanoma with the *BRAFV600E* mutation (Cao *et al.*, 2018; Ding *et al.*, 2017; Zablocka *et al.*, 2022). Thyroid cancer, desmoid tumors, ovarian tumors, and multiple myeloma have all demonstrated associations with specific Wnt-activating mutations (Miyoshi *et al.*, 1998; Sastre-Perona & Santisteban, 2012; Zyla *et al.*, 2021). Understanding the role of Wnt-activating mutations is vital, as these mutations have been linked to resistance to anticancer drugs (Ha *et al.*, 2021; Tomar *et al.*, 2020). Furthermore, the Wnt/ β -catenin signaling pathway interacts with several other cellular signaling cascades, such as EGFR, Hippo/YAP, NF- κ B, Notch, Sonic Hedgehog, and the PI3K/Akt pathway, influencing critical molecular mechanisms in cancer development (Chen *et al.*, 2012;

Hu & Li, 2010; Krishnamurthy & Kurzrock, 2018; Liu *et al.*, 2020; Perry *et al.*, 2020; Tomar *et al.*, 2020).

The interplay of the Wnt/ β -catenin signaling pathway with diverse cellular cascades highlights its significant role in cancer development and persistence. The prevalence of diverse Wnt-activating mutations in various cancer types emphasizes the widespread influence of the Wnt pathway in malignancies (Parsons *et al.*, 2021). These mutations are associated with the pathogenesis of numerous cancer types, suggesting the critical importance of comprehending the molecular mechanisms underlying Wnt-related oncogenesis. Furthermore, the correlation between Wnt-activating mutations and resistance to conventional anticancer therapies emphasizes the urgency for the development of targeted interventions aimed at disrupting aberrant Wnt signaling (Hinze *et al.*, 2020).

The schematic representation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway presented in **Figure 1** elucidates the core regulatory mechanisms involved in the pathway, providing valuable insights into the intricate molecular events contributing to Wnt signaling-mediated tumorigenesis (Wall *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2018). The pivotal role of the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer biology, along with the development of small-molecule drugs targeting this pathway, offers promising avenues for the advancement of novel anticancer therapies. The crosstalk between the Wnt/ β -catenin pathway and other pivotal cellular signaling cascades reflects the multifaceted nature of the molecular mechanisms driving cancer development, providing valuable prospects for future research and therapeutic exploration (Bisevac *et al.*, 2023).

3.2. Strategies of small-molecule design targeting the Wnt signal

While currently no approved anticancer drug targeting the Wnt pathway exists, certain compounds have displayed potential in clinical trials, exhibiting promising toxicity profiles and favorable preclinical data. **Table 1** presents an overview of clinical trials investigating small-molecule inhibitors targeting the Wnt signaling pathway. These agents aim to modulate key components of the Wnt signaling pathway, including PORCN, β -catenin, and GSK-3, to disrupt aberrant Wnt signaling implicated in diverse cancer types. **Figure 2** outlines small-molecule agents designed to target specific components of the Wnt signaling pathway, representing potential candidates for the development of effective anticancer drugs. Each compound interacts with particular elements of the pathway, modulating their activity and ultimately

influencing cancer progression. These chemical agents demonstrate the complexities of the design and targeting strategies involved in the development of anticancer drugs focused on the Wnt signaling pathway, highlighting ongoing efforts to leverage the intricate molecular mechanisms of cancer development for the advancement of targeted therapies. However, these drug designs are also based on shared characteristics, grounded in specific chemical scaffolds. These shared features may serve as guiding principles for researchers to continue designing potentially effective Wnt signal inhibitors for cancer treatment. The subsequent content of the article delves deeper into notable drug design directions (Morris *et al.*, 2022).

3.2.1. Targeting β -catenin

β -catenin, a central component of the Wnt pathway crucial for the regulation of gene expression (Krishnamurthy & Kurzrock, 2018), has garnered significant attention in the development of small-molecule inhibitors such as BC2059 (Tegavivint), E7386, SM08502, CWP232291, and PRI-724, intended to modulate β -catenin function across various cancer types, including desmoid tumors, colorectal neoplasms, pancreatic cancer, and multiple myeloma (Bisevac *et al.*, 2023).

Compounds such as E7386, PRI-724, BC2059, and SM08502 (**Figure 2A**) are engineered to interact with β -catenin or its associated molecular partners, aiming to disrupt its signaling function and impede its oncogenic potential (Kahn, 2014). These compounds possess their chemical structures incorporating diverse functional groups that enable them to bind to specific regions of β -catenin, thereby modulating its activity and downstream signaling cascades (Wang *et al.*, 2020). While E7386 and PRI-724 were both designed on the scaffold of *pyrazino[2,1-c][1,2,4]triazine-4,7-dione*, the structural properties of E7386 reveal a complex configuration with multiple functional groups that may contribute to its specific binding and inhibitory effects on β -catenin (Yamada *et al.*, 2021). In contrast, PRI-724 exhibits a distinctive structure, potentially contributing to its mechanism of action as a selective inhibitor of β -catenin-dependent transcription (Boone *et al.*, 2016).

3.2.2. Targeting GSK-3

Another set of chemical agents depicted in Figure 2B focuses on targeting GSK-3, a key downstream component of the Wnt pathway, is also under investigation. LY2090314 (Bisevac *et al.*, 2023) and 9-ING-4 (Coats *et al.*, 2023) are specifically designed to inhibit GSK-3 activity, thereby interfering with the phosphorylation of downstream substrates and affecting various cellular processes linked to cancer development and progression (Beurel *et al.*, 2015). The

intricate chemical structures of these compounds reflect the precise targeting of GSK-3 and the intricate balance required to modulate its activity for therapeutic benefit in the context of cancer treatment. Small-molecule inhibitors like 9-ING-41 and LY2090314 are being evaluated in refractory cancers, myelofibrosis, and leukemia, aiming to regulate the activity of GSK-3 and modulate the downstream effects of the Wnt signaling pathway (Beurel *et al.*, 2015). The diverse agents and the range of cancer types being targeted in these clinical trials suggest the importance of the Wnt signaling pathway in cancer biology and the potential of these small-molecule inhibitors in developing innovative and effective cancer therapies (Beurel *et al.*, 2015; Coats *et al.*, 2023). The outcomes of these ongoing trials are anticipated to provide valuable insights into the clinical efficacy and safety profiles of these agents, facilitating the development of targeted therapies for various types of cancer (Beurel *et al.*, 2015).

3.2.3. Targeting Porcupine

Porcupine (PORCN), an enzyme belonging to the membrane-bound O-acyltransferase (MBOAT) family, plays a vital role in the secretion of Wnt ligands. Several inhibitors targeting PORCN aim to hinder the process of Wnt protein palmitoylation within the endoplasmic reticulum, specifically diminishing the capacity for Wnt ligand secretion, while leaving the secretion of other types of ligands unaffected (Madan & Virshup, 2015). Hence, Porcupine is considered a highly specific target for Wnt-driven cancers. Furthermore, the compounds identified as PORCN inhibitors, including WNT974 (NCT01351103, 2023), RXC004 (Phillips *et al.*, 2022), and CGX-1321 (Wall *et al.*, 2021), represent a class of chemical agents targeting the Wnt signaling pathway (Figure 3C). These inhibitors act by blocking the function of PORCN, a crucial enzyme involved in the secretion and processing of Wnt ligands (Madan & Virshup, 2015). By inhibiting PORCN activity, these compounds disrupt the Wnt ligand secretion and consequent activation of the Wnt signaling cascade, thus interfering with the proliferation and progression of various cancers (Proffitt *et al.*, 2013).

3.3. Emerging directions and future prospects

Recent trends in drug development emphasize the utilization of big data and artificial intelligence trained on extensive biological data (Fang *et al.*, 2023). The growing availability of biomedical data, supported by scientific advancements, has greatly facilitated cancer drug research by predefining molecular targets. From these targets, it is possible to design small-molecule drugs or biopharmaceuticals to intervene at the target level, regulating signals at the

cellular and molecular levels. Consequently, based on combination therapies and precision medicine treatments, therapeutic protocols can be developed. The design and synthesis of an organic chemical with various advantages are based on supportive theoretical foundations such as pharmacophore and bioisosterism. *In silico* tools also play a significant role in the design of small-molecule drugs. Within the scope of this article, we delve into the emerging direction of inhibiting the Disheveled protein, as recent discoveries have highlighted its significant potential as a target, marking its critical role and considerable potential (Nardella *et al.*, 2021).

In Figure 3, a schematic summary of the Disheveled protein mechanism in the context of Wnt signal interaction is proposed (Sharma *et al.*, 2018). Notably, several protein domains have been clearly identified for their ability to interact with signals, suggesting the design of small molecules to inhibit Wnt based on this molecular mechanism. Of particular interest are the DIX, PZD, and DEF domains, all found to play a role in intermolecular interactions, connecting Wnt signals within the cell. In recent studies, the PZD domain has been recognized as a potential binding site for new Wnt signal inhibitors (Grandy *et al.*, 2009; Kamdem *et al.*, 2021). The structure of the PZD domain is depicted in Figure 4, based on X-ray scattering methods, with clearly defined spatial arrangements conducive to *in silico* studies and proposals for the design of small molecules aimed at high-affinity binding to the PZD domain to inhibit Wnt signaling (Kamdem *et al.*, 2021). Several proposed compounds have been studied and described in Figure 5, such as NSC668036 (a small peptide) KY-02327, KY-0206 (aromatic-based scaffold design) (Kim *et al.*, 2016), and a series of molecules synthesized on the scaffold of 2-(hydrosulfonylamino) benzoic acid (Kamdem *et al.*, 2021). The diversity of molecules shows that the development of Wnt signaling inhibitors along these lines of research has been attracting interest. However, there are still no PZD domain inhibitors that have been successfully tested in clinical research, so there are still many knowledge gaps in this direction of drug development that need to be explored.

Other targets and approaches for inhibiting Wnt signaling are diverse and abundant, creating opportunities for the development of cancer drugs based on this mechanism (Flanagan *et al.*, 2022). Additionally, the identification and validation of reliable biomarkers associated with Wnt pathway activation and treatment response will facilitate the monitoring of treatment efficacy and the prediction of patient outcomes. However, within the limits of this article, only a few aspects of small-molecule drug development have been discussed. Deeper

discussions on other related mechanisms are necessary for further research, depending on the researchers' chosen directions in drug development, including drug repurposing, polypharmacology deployment, drug combinations, and proposals in preclinical models. This includes the development of more accurate animal models and sophisticated *in vitro* systems, which are crucial for the effective evaluation of Wnt-targeted therapies.

4. Conclusion

In conclusion, our review draw attention to the significance of developing small molecule drugs targeting the Wnt signaling pathway for effective cancer therapy. While several inhibitors have shown promise in disrupting tumor cell development, further exploration is needed. We advocate for continued research into the structural properties of these compounds and the potential for combining them to enhance their effectiveness and safety in cancer treatment.

References

- Alharbi, K.S., Almalki, W.H., Makeen, H.A., Albratty, M., Meraya, A.M., Nagraik, R., Sharma, A., Kumar, D., Chellappan, D.K., Singh, S.K., Dua, K., & Gupta, G. (2022). Role of Medicinal Plant-Derived Nutraceuticals As A Potential Target For The Treatment Of Breast Cancer. *Journal of Food Biochemistry*, 46, 1-18. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14387>
- Beurel, E., Grieco, S.F., & Jope, R.S. (2015). Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK3): Regulation, Actions, and Diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, 148, 114–131. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.11.016>
- Bisevac, J., Katta, K., Petrovski, G., Moe, M.C., & Noer, A. (2023). Wnt/ β -Catenin Signaling Activation Induces Differentiation in Human Limbal Epithelial Stem Cells Cultured Ex Vivo. *Biomedicines*, 11(7), 1-19. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071829>
- Boone, J.D., Arend, R.C., Johnston, B.E., Cooper, S.J., Gilchrist, S.A., Oelschlager, D.K., Grizzle, W.E., McGwin, G., Gangrade, A., Straughn, J.M., & Buchsbaum, D.J. (2016). Targeting The Wnt/ β -Catenin Pathway In Primary Ovarian Cancer With The Porcupine Inhibitor WNT974. *Laboratory Investigation*, 96, 249–259. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2015.150>
- Cao, M.-Q., You, A.-B., Zhu, X.-D., Zhang, W., Zhang, Y.-Y., Zhang, S.-Z., Zhang, K., Cai, H., Shi, W.-K., Li, X.-L., Li, K.-S., Gao, D.-M., Ma, D.-N., Ye, B.-G., Wang, C.-H., Qin, C.-D., Sun, H.-C., Zhang, T., & Tang, Z.-Y. (2018). miR-182-5p Promotes Hepatocellular Carcinoma Progression By Repressing FOXO3a. *Journal of Hematology & Oncology*, 11(12), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0555-y>
- Chen, L., Qin, F., Deng, X., Avruch, J., & Zhou, D. (2012). Hippo Pathway In Intestinal Homeostasis and Tumorigenesis. *Protein & Cell*, 3(4), 305–310. <https://doi.org/10.1007/s13238-012-2913-9>

- Choi, B.-R., Cave, C., Na, C.H., & Sockanathan, S. (2020). GDE2-Dependent Activation of Canonical Wnt Signaling in Neurons Regulates Oligodendrocyte Maturation. *Cell Reports*, 31(5), 107540. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107540>
- Coats, J.T., Tauro, S., & Sutherland, C. (2023). Elraglusib (Formerly 9-ING-41) Possesses Potent Anti-Lymphoma Properties Which Cannot Be Attributed To GSK3 Inhibition. *Cell Communication and Signaling*, 21(131), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01147-8>
- Cook, N., Blagden, S., Lopez, J., Sarker, D., Greystoke, A., Harris, N., Kazmi, F., Naderi, A., Nintos, G., Franco, A., Pihlak, R., Shinde, R., Goodwin, L., Phillips, C., Robertson, J., Saunders, A., Tilston, C., Woodcock, S., & Plummer, R. (2021). 517MO Phase I Study of The Porcupine (PORCN) Inhibitor RXC004 In Patients With Advanced Solid Tumours. *Annals of Oncology*, 32, S586–S587. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.1039>
- Cortes, J.E., Faderl, S., Pagel, J., Jung, C.W., Yoon, S.-S., Koh, Y., Pardanani, A.D., Hauptschein, R.S., Lee, K.J., Lee, J.H. (2015). Phase 1 Study of CWP232291 In Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia (AML) and Myelodysplastic Syndrome (MDS). *Journal of Clinical Oncology*, 33(15), 7044. https://doi.org/10.1200/jco.2015.33.15_suppl.7044
- Cranmer, L.D., Razak, A.R.A., Ratan, R., Choy, E., George, S., Liebner, D.A., Stenehjem, D.D., Gounder, M.M. (2022). Results of A Phase I Dose Escalation and Expansion Study of tegavivint (BC2059), a first-in-class TBL1 Inhibitor For Patients With Progressive, Unresectable Desmoid Tumor. *Journal of Clinical Oncology*, 40(16), 11523. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.11523
- DeNardo, B., Foster, J., Pinto, N.R., Sholler, G.L.S., Vo, K.T., Desai, A.V., Sun, J., Wagner, L.M., Macy, M.E., Mody, R., Oesterheld, J.E., Cash, T., Bhuta, R., Barbieri, E., Pearson, A.D., Cavalcante, L., Giles, F.J., Lulla, R.R. (2022). Phase 1/2 Study of Elraglusib (9-ING-41), A Small Molecule Selective Glycogen Synthase Kinase-3 Beta (GSK-3 β) Inhibitor, Alone Or With Irinotecan, Temozolomide/Irinotecan Or Cyclophosphamide/Topotecan In Pediatric Patients With Refractory Malignancies: Interim Results. *Journal of Clinical Oncology*, 40(16), e22015. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.e22015
- Ding, Z., Shi, C., Jiang, L., Tolstykh, T., Cao, H., Bangari, D.S., Ryan, S., Levit, M., Jin, T., Mamat, K., Yu, Q., Qu, H., Hopke, J., Cindhuchao, M., Hoffmann, D., Sun, F., Helms, M.W., Jahn-Hofmann, K., Scheidler, S., Schweizer, L., Fang, D.D., Pollard, J., Winter, C., & Wiederschain, D., 2017. Oncogenic Dependency on β -Catenin In Liver Cancer Cell Lines Correlates With Pathway Activation. *Oncotarget*, 8, 114526–114539. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21298>
- El-Khoueiry, A.B., Ning, Y., Yang, D., Cole, S., Kahn, M., Zoghbi, M., Berg, J., Fujimori, M., Inada, T., Kouji, H., Lenz, Heinz-Josef. (2013). A Phase I First-In-Human Study of PRI-724 In Patients (pts) With Advanced Solid Tumors. *Journal of Clinical Oncology*, 31(15), 2501. https://doi.org/10.1200/jco.2013.31.15_suppl.2501
- Fang, G., Fan, J., Ding, Z., & Zeng, Y. (2023). Application of Biological Big Data and Radiomics In Hepatocellular Carcinoma. *iLIVER*, 2, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.iliver.2023.01.003>
- Flanagan, D.J., Barker, N., Costanzo, N.S.D., Mason, E.A., Gurney, A., Meniel, V.S., Koushyar, S., Austin, C.R., Ernst, M., Pearson, H.B., Boussioutas, A., Clevers, H., Pheffe, T.J., & Vincan, E., 2019. Frizzled-7 Is Required for Wnt Signaling in Gastric Tumors with and Without *Apc* Mutations. *Cancer Research*, 79(5), 970–981. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-2095>
- Flanagan, D.J., Woodcock, S.A., Phillips, C., Eagle, C., & Sansom, O.J. (2022). Targeting Ligand-Dependent Wnt Pathway Dysregulation In Gastrointestinal Cancers Through Porcupine Inhibition. *Pharmacology & Therapeutics*, 238, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108179>
- Gajos-Michniewicz, A., & Czyz, M. (2020). WNT Signaling in Melanoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 1-31. <https://doi.org/10.3390/ijms21144852>

- Giannakis, M., Le, D.T., Pishvaian, M.J., Weinberg, B.A., Papadopoulos, K.P., Shen, L., Gong, J., Li, J., Strickler, J.H., Zhou, A., Zhang, W., Parikh, A.R., Deming, D.A., Falchook, G.S., Cai, J., Rosenstein, L., Dorr, A., An, M.M. (2023). Phase 1 Study of WNT Pathway Porcupine Inhibitor CGX1321 and Phase 1b Study of CGX1321 + Pembrolizumab (pembro) In Patients (pts) With Advanced Gastrointestinal (GI) Tumors. *Journal of Clinical Oncology*, 41(16), 3514. https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.3514
- Grandy, D., Shan, J., Zhang, X., Rao, S., Akunuru, S., Li, H., Zhang, Y., Alpatov, I., Zhang, X.A., Lang, R.A., Shi, D.-L., & Zheng, J.J. (2009). Discovery and Characterization of a Small Molecule Inhibitor of the PDZ Domain of Dishevelled. *Journal of Biological Chemistry*, 284(24), 16256–16263. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.009647>
- Gray, J.E., Infante, J.R., Brail, L.H., Simon, G.R., Cooksey, J.F., Jones, S.F., Farrington, D.L., Yeo, A., Jackson, K.A., Chow, K.H., Zamek-Gliszczynski, M.J., Burris III, H.A. (2015). A First-In-Human Phase I dose-Escalation, Pharmacokinetic, and Pharmacodynamic Evaluation of Intravenous LY2090314, A Glycogen Synthase Kinase 3 Inhibitor, Administered In Combination With Pemetrexed and Carboplatin. *Investigational New Drugs*, 33, 1187–1196. <https://doi.org/10.1007/s10637-015-0278-7>
- Ha, H.-A., Yang, J.-S., Tsai, F.-J., Li, C.-W., Cheng, Y.-D., Li, J., Hour, M.-J., & Chiu, Y.-J. (2021). Establishment of a Novel Temozolomide Resistant Subline of Glioblastoma Multiforme Cells and Comparative Transcriptome Analysis With Parental Cells. *Anticancer Research*, 41(5), 2333–2347. <https://doi.org/10.21873/anticanres.15008>
- He, S., & Tang, S. (2020). WNT/ β -Catenin Signaling In The Development of Liver Cancers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 132, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110851>
- Hinze, L., Labrosse, R., Degar, J., Han, T., Schatoff, E.M., Schreek, S., Karim, S., McGuckin, C., Sacher, J.R., Wagner, F., Stanulla, M., Yuan, C., Sicinska, E., Giannakis, M., Ng, K., Dow, L.E., & Gutierrez, A. (2020). Exploiting the Therapeutic Interaction of WNT Pathway Activation and Asparaginase for Colorectal Cancer Therapy. *Cancer Discovery*, 10(11), 1690–1705. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-1472>
- Hu, T., & Li, C. (2010). Convergence Between Wnt- β -catenin and EGFR Signaling in Cancer. *Molecular Cancer*, 9(236), 1-7. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-236>
- Huong, N.T.Q., Ngoc, H.T., & Anh, H.H. (2018). Major Signaling Pathways Used In Drug Development For Colorectal Cancer Targeted Therapies: A Review. *DTU Journal of Science and Technology*, 5(30), 99–109. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.8348636>
- Ikeda, M., Kato, N., Kondo, S., Inaba, Y., Ueshima, K., Sasaki, M., Kanzaki, H., Ida, H., Imaoka, H., Minami, Y., Mitsunaga, S., Nishida, N., Ogasawara, S., Watanabe, K., Sahara, T., Hayata, N., Yamamuro, S., Kimura, T., Tamai, T., Kudo, M. (2023). A Phase 1b Study of E7386, A CREB-Binding Protein (CBP)/ β -Catenin Interaction Inhibitor, In Combination With Lenvatinib In Patients With Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Clinical Oncology*, 41(16), 4075. https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.4075
- Kahn, M. (2014). Can We Safely Target The WNT Pathway? *Nature Reviews Drug Discovery*, 13, 513–532. <https://doi.org/10.1038/nrd4233>
- Kamdem, N., Roske, Y., Kovalsky, D., Platonov, M.O., Balinskyi, O., Kreuchwig, A., Saupe, J., Fang, L., Diehl, A., Schmieder, P., Krause, G., Rademann, J., Heinemann, U., Birchmeier, W., & Oschkinat, H. (2021). Small-Molecule Inhibitors of The PDZ Domain of Dishevelled Proteins Interrupt Wnt Signalling. *Magnetic Resonance*, 2, 355–374. <https://doi.org/10.5194/mr-2-355-2021>
- Kim, H., Choi, S., Yoon, J., Lim, H.J., Lee, H., Choi, J., Ro, E.J., Heo, J., Lee, W., No, K.T., & Choi, K. (2016). Small Molecule Inhibitors of The Dishevelled- CXXC 5 Interaction Are New Drug Candidates For Bone Anabolic Osteoporosis Therapy. *EMBO Molecular Medicine*, 8, 375–387. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505714>

- Krishnamurthy, N., & Kurzrock, R. (2018). Targeting The Wnt/BETA-CATENIN PATHWAY IN CANCER: Update On Effectors and Inhibitors. *Cancer Treatment Reviews*, 62, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.11.002>
- Ko, A.H., Chiorean, E.G., Kwak, E.L., Lenz, H.-J., Nadler, P.I., Wood, D.L., Fujimori, M., Inada, T., Kouji, H., McWilliams, R.R. (2016). Final Results of A Phase Ib Dose-Escalation Study of PRI-724, A CBP/beta-catenin Modulator, Plus Gemcitabine (GEM) In Patients With Advanced Pancreatic Adenocarcinoma (APC) As Second-Line Therapy After FOLFIRINOX or FOLFOX. *Journal of Clinical Oncology*, 34(15), e15721. https://doi.org/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.e15721
- Kondo, S., Kawazoe, A., Iwasa, S., Yamamoto, N., Ueda, Y., Nagao, S., Kimura, T., Suzuki, I., Hayata, N., Tamai, T., Shitara, K. (2023). A Phase 1 Study of E7386, A CREB-Binding Protein (CBP)/ β -catenin Interaction Inhibitor, In Patients (pts) With Advanced Solid Tumors Including Colorectal Cancer: Updated Dose-Escalation Part. *Journal of Clinical Oncology*, 41(4), 106. https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.4_suppl.106
- Liu, J., Xiao, Q., Xiao, J., Niu, C., Li, Y., Zhang, X., Zhou, Z., Shu, G., & Yin, G. (2022). Wnt/ β -Catenin Signalling: Function, Biological Mechanisms, and Therapeutic Opportunities. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(3), 1-23. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00762-6>
- Liu, T., Wei, Q., Jin, J., Luo, Q., Liu, Y., Yang, Y., Cheng, C., Li, Lanfang, Pi, J., Si, Y., Xiao, H., Li, Li, Rao, S., Wang, F., Yu, Jianhua, Yu, Jia, Zou, D., & Yi, P. (2020). The m6A Reader YTHDF1 promotes Ovarian Cancer Progression Via Augmenting EIF3C Translation. *Nucleic Acids Research*, 48(7), 3816–3831. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa048>
- Madan, B., & Virshup, D.M. (2015). Targeting Wnts at the Source—New Mechanisms, New Biomarkers, New Drugs. *Molecular Cancer Therapeutics*, 14(5), 1087–1094. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-14-1038>
- Mahalingam, D., Carneiro, B.A., Safran, H., Powell, S.F., Coveler, A.L., Davis, E.J., Cervantes, A., Sahai, V., Steeghs, N., Huerta, M., Berlin, J., Mulcahy, M.F., Giles, F.J., Cavalcante, L., & Saeed, A. (2022). Phase 2 Study of 9-ING-41, A Small Molecule Selective Glycogen Synthase Kinase-3 Beta (GSK-3 β) Inhibitor, With Gemcitabine/nab-Paclitaxel (GnP) In First-Line Advanced Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC). *Journal of Clinical Oncology*, 40(4), 578. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.4_suppl.578
- Miyoshi, Y., Iwao, K., Nawa, G., Yoshikawa, H., Ochi, T., & Nakamura, Y. (1998). Frequent Mutations In The Beta-Catenin Gene In Desmoid Tumors From Patients Without Familial Adenomatous Polyposis. *Oncology Research*, 10(11-12), 591–594.
- Morris, A., Pagare, P.P., Li, J., & Zhang, Y. (2022). Drug Discovery Efforts Toward Inhibitors of Canonical Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway In The Treatment of Cancer: A Composition-Of-Matter Review (2010–2020). *Drug Discovery Today*, 27, 1115–1127. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.11.014>
- Nardella, C., Visconti, L., Malagrino, F., Pagano, L., Bufano, M., Nalli, M., Coluccia, A., La Regina, G., Silvestri, R., Gianni, S., & Toto, A. (2021). Targeting PDZ Domains As Potential Treatment For Viral Infections, Neurodegeneration and Cancer. *Biology Direct*, 16(15), 1-21. <https://doi.org/10.1186/s13062-021-00303-9>
- NCT01214603. (2018). A Study in Participants With Acute Leukemia. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01214603> (accessed 12.30.23).
- NCT01287520. (2019). A Study of LY2090314 in Patients With Advanced or Metastatic Cancer. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01287520> (accessed 12.30.23).
- NCT01302405. (2017). Safety and Efficacy Study of PRI-724 in Subjects With Advanced Solid Tumors. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01302405> (accessed 12.30.23).
- NCT01351103. (2023). A Study of LGK974 in Patients With Malignancies Dependent on Wnt Ligands. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01351103> (accessed 12.30.23).

- NCT01606579. (2017). Safety and Efficacy Study of PRI-724 in Subjects With Advanced Myeloid Malignancies. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01606579> (accessed 12.30.23).
- NCT01632306. (2012). A Study of LY2090314 and Chemotherapy in Participants With Metastatic Pancreatic Cancer. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01632306> (accessed 12.30.23).
- NCT01764477. (2017). Safety and Efficacy Study of PRI-724 Plus Gemcitabine in Subjects With Advanced or Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01764477> (accessed 12.30.23).
- NCT02278133. (2017). Study of WNT974 in Combination With LGX818 and Cetuximab in Patients With BRAF-mutant Metastatic Colorectal Cancer (mCRC) and Wnt Pathway Mutations. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02278133> (accessed 12.30.23).
- NCT02413853. (2017). Combination Chemotherapy and Bevacizumab With or Without PRI-724 in Treating Patients With Newly Diagnosed Metastatic Colorectal Cancer. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT02413853> (accessed 12.30.23).
- NCT02426723. (2019). Clinical Study of CWP232291 in Relapsed or Refractory Myeloma Patients. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT02426723> (accessed 12.30.23).
- NCT02521844. (2023). A Study to Evaluate the Safety and Tolerability of ETC-1922159 as a Single Agent and in Combination With Pembrolizumab in Advanced Solid Tumours. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT02521844> (accessed 12.30.23).
- NCT02675946. (2022). CGX1321 in Subjects With Advanced Solid Tumors and CGX1321 With Pembrolizumab or Encorafenib + Cetuximab in Subjects With Advanced GI Tumors (Keynote 596). <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT02675946> (accessed 12.30.23).
- NCT03055286. (2021). Clinical Study of CWP232291 in Acute Myeloid Leukemia Patients. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03055286> (accessed 12.30.23).
- NCT03264664. (2023). Study of E7386 in Participants With Selected Advanced Neoplasms. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03264664> (accessed 12.30.23).
- NCT03355066. (2022). A Study Evaluating the Safety and Pharmacokinetics of Orally Administered SM08502 in Subjects With Advanced Solid Tumors. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03355066> (accessed 12.30.23).
- NCT03447470. (2023). Study to Evaluate the Safety and Tolerability of RXC004 in Advanced Malignancies. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03447470> (accessed 12.30.23).
- NCT03459469. (2023). Phase I, Open-label, Non-randomized Study to Evaluate Safety of BC2059. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03459469> (accessed 12.30.23).
- NCT03507998. (2020). Phase 1 Dose Escalation Study of CGX1321 in Subjects With Advanced Gastrointestinal Tumors. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03507998> (accessed 12.30.23).
- NCT03678883. (2023). 9-ING-41 in Patients With Advanced Cancers. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03678883> (accessed 12.30.23).
- NCT03833700. (2023). A Study of E7386 in Participants With Advanced Solid Tumor Including Colorectal Cancer (CRC). <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03833700> (accessed 12.30.23).
- NCT03901950. (2023). Phase 1 Study to Evaluate the Safety, Tolerability and Pharmacokinetic Profile of XNW7201 in Subjects With Advanced Solid Tumors. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT03901950> (accessed 12.30.23).
- NCT04008797. (2023). A Study of E7386 in Combination With Other Anticancer Drug in Participants With Solid Tumor. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT04008797> (accessed 12.30.23).
- NCT04218071. (2023). Actuate 1901: 9-ING-41 in Myelofibrosis. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT04218071> (accessed 12.30.23).

- NCT04239092. (2023). 9-ING-41 in Pediatric Patients With Refractory Malignancies. <https://classic.clinicaltrials.gov/show/NCT04239092> (accessed 12.30.23).
- Parsons, M.J., Tammela, T., & Dow, L.E. (2021). WNT as a Driver and Dependency in Cancer. *Cancer Discovery*, 11(10), 2413–2429. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-0190>
- Perry, J.M., Tao, F., Roy, A., Lin, T., He, X.C., Chen, S., Lu, X., Nemechek, J., Ruan, L., Yu, X., Dukes, D., Moran, A., Pace, J., Schroeder, K., Zhao, M., Venkatraman, A., Qian, P., Li, Z., Hembree, M., Paulson, A., He, Z., Xu, D., Tran, T.-H., Deshmukh, P., Nguyen, C.T., Kasi, R.M., Ryan, R., Broward, M., Ding, S., Guest, E., August, K., Gamis, A.S., Godwin, A., Sittampalam, G.S., Weir, S.J., & Li, L. (2020). Overcoming Wnt- β -Catenin Dependent Anticancer Therapy Resistance In Leukaemia Stem Cells. *Nature Cell Biology*, 22, 689–700. <https://doi.org/10.1038/s41556-020-0507-y>
- Phillips, C., Bhamra, I., Eagle, C., Flanagan, E., Armer, R., Jones, C.D., Bingham, M., Calcraft, P., Edmenson Cook, A., Thompson, B., & Woodcock, S.A. (2022). The Wnt Pathway Inhibitor RXC004 Blocks Tumor Growth and Reverses Immune Evasion in Wnt Ligand-dependent Cancer Models. *Cancer Research Communications*, 2(9), 914–928. <https://doi.org/10.1158/2767-9764.CRC-21-0095>
- Proffitt, K.D., Madan, B., Ke, Z., Pendharkar, V., Ding, L., Lee, M.A., Hannoush, R.N., & Virshup, D.M. (2013). Pharmacological Inhibition of the Wnt Acyltransferase PORCN Prevents Growth of WNT-Driven Mammary Cancer. *Cancer Research*, 73(2), 502–507. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2258>
- Rizzieri, D.A., Cooley, S., Odenike, O., Moonan, L., Chow, K.H., Jackson, K., Wang, X., Brail, L., Borthakur, G. (2016). An Open-Label Phase 2 Study of Glycogen Synthase Kinase-3 Inhibitor LY2090314 In Patients With Acute Leukemia. *Leukemia & Lymphoma*, 57(8), 1800–1806. <https://doi.org/10.3109/10428194.2015.1122781>
- Rodon, J., Argilés, G., Connolly, R.M., Vaishampayan, U., de Jonge, M., Garralda, E., Giannakis, M., Smith, D.C., Dobson, J.R., McLaughlin, M.E., Seroutou, A., Ji, Y., Morawiak, J., Moody, S.E., Janku, F. (2021). Phase 1 Study of Single-Agent WNT974, A First-In-Class Porcupine Inhibitor, In Patients With Advanced Solid Tumours. *British Journal of Cancer*, 125, 28–37. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01389-8>
- Salik, B., Yi, H., Hassan, N., Santiappillai, N., Vick, B., Connerty, P., Duly, A., Trahair, T., Woo, A.J., Beck, D., Liu, T., Spiekermann, K., Jeremias, I., Wang, J., Kavallaris, M., Haber, M., Norris, M.D., Liebermann, D.A., D'Andrea, R.J., Murriel, C., & Wang, J.Y. (2020). Targeting RSPO3-LGR4 Signaling for Leukemia Stem Cell Eradication in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Cell*, 38(2), 263–278.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.05.014>
- Sastre-Perona, A., & Santisteban, P. (2012). Role of the Wnt Pathway in Thyroid Cancer. *Frontiers in Endocrinology*, 3(31), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00031>
- Sharma, M., Castro-Piedras, I., GE, S., Jr, & Pruitt, K. (2018). Dishevelled: A masterful Conductor of Complex Wnt signals. *Cell Signal*, 47, 52–64. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.03.004>.
- Snyder, H. (2019). Literature Review As A Research Methodology: An Overview and Guidelines. *Journal of Business Research*, 104, 333–339. <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.07.039>
- Soleas, J.P., D'Arcangelo, E., Huang, L., Karoubi, G., Nostro, M.C., McGuigan, A.P., & Waddell, T.K. (2020). Assembly of lung progenitors into developmentally-inspired geometry drives differentiation via *cellular tension*. *Biomaterials*, 254, 120128. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120128>
- Taberero, J., Van Cutsem, E., Garralda, E., Tai, D., De Braud, F., Geva, R., van Bussel, M.T.J., Fiorella Dotti, K., Elez, E., de Miguel, M.J., Litwiler, K., Murphy, D., Edwards, M., & Morris, V.K. (2023). A Phase Ib/II Study of WNT974 + Encorafenib + Cetuximab in Patients With BRAF V600E-Mutant KRAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist*, 28(3), 230–238. <https://doi.org/10.1093/oncolo/oyad007>.

- Tan, D.S.P., Ng, M.C.H.M., Subbiah, V., Messersmith, W.A., Strickler, J.H., Diermayr, V., Cometa, J., Blanchard, S., Nellore, R., Pendharkar, V., Gan, B.H., Rozaini, N.N., Koh, C., Sarma, S., Poh, H.M., Lezhava, A., Prativadibhayankaram, V.S. (2023). A Phase 1B Dose Escalation Study of ETC-159 In Combination With Pembrolizumab In Advanced Or Metastatic Solid Tumours. *Journal of Clinical Oncology*, 41(16), 2601. https://doi.org/10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.2601
- Tam, B.Y., Chiu, K., Chung, H., Bossard, C., Nguyen, J.D., Creger, E., Eastman, B.W., Mak, C.C., Ibanez, M., Ghias, A., Cahiwat, J., Do, L., Cho, S., Nguyen, J., Deshmukh, V., Stewart, J., Chen, C.-W., Barroga, C., Dellamary, L., Kc, S.K., Phalen, T.J., Hood, J., Cha, S., & Yazici, Y. (2020). The CLK Inhibitor SM08502 Induces Anti-Tumor Activity And Reduces Wnt Pathway gene Expression In Gastrointestinal Cancer Models. *Cancer Letters*, 473, 186–197. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.09.009>
- Tomar, V.S., Patil, V., & Somasundaram, K. (2020). Temozolomide Induces Activation of Wnt/ β -catenin Signaling In Glioma Cells Via PI3K/Akt Pathway: Implications In Glioma Therapy. *Cell Biology and Toxicology*, 36, 273–278. <https://doi.org/10.1007/s10565-019-09502-7>
- Wall, J.A., Meza-Perez, S., Scalise, C.B., Katre, A., Londoño, A.I., Turbitt, W.J., Randall, T., Norian, L.A., & Arend, R.C. (2021). Manipulating the Wnt/ β -catenin Signaling Pathway To Promote Anti-Tumor Immune Infiltration Into The TME To Sensitize Ovarian Cancer To ICB Therapy. *Gynecologic Oncology*, 160(1), 285–294. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.10.031>
- Wang, B., Li, X., Liu, L., & Wang, M. (2020). β -Catenin: Oncogenic Role and Therapeutic Target In Cervical Cancer. *Biological Research*, 53(33), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s40659-020-00301-7>
- Yamada, K., Hori, Y., Inoue, S., Yamamoto, Y., Iso, K., Kamiyama, H., Yamaguchi, A., Kimura, T., Uesugi, M., Ito, J., Matsuki, M., Nakamoto, K., Harada, H., Yoneda, N., Takemura, A., Kushida, I., Wakayama, N., Kubara, K., Kato, Y., Semba, T., Yokoi, A., Matsukura, M., Odagami, T., Iwata, M., Tsuruoka, A., Uenaka, T., Matsui, J., Matsushima, T., Nomoto, K., Kouji, H., Owa, T., Funahashi, Y., & Ozawa, Y. (2021). E7386, a Selective Inhibitor of the Interaction between β -Catenin and CBP, Exerts Antitumor Activity in Tumor Models with Activated Canonical Wnt Signaling. *Cancer Research*, 81(4), 1052–1062. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-0782>
- Yoon, S.-S., Manasanch, E.E., Min, C.K., Kim, J.S., Hauptschein, R.S., Choi, J., Chun, J.K. (2017). Novel Phase 1a/1b Dose-Finding Study Design of CWP232291 (CWP291) In Relapsed Or Refractory Myeloma (MM). *Journal of Clinical Oncology*, 35(15), TPS8058. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.TPS8058
- Zablocka, T., Kreismane, M., Pjanova, D., & Isajevs, S. (2022). Effects of BRAF V600E and NRAS Mutational Status on The Progression-Free Survival and Clinicopathological Characteristics of Patients With Melanoma. *Oncology Letters*, 25, 27. <https://doi.org/10.3892/ol.2022.13613>
- Zhang, M., Weng, W., Zhang, Q., Wu, Y., Ni, S., Tan, C., Xu, M., Sun, H., Liu, C., Wei, P., & Du, X. (2018). The lncRNA NEAT1 Activates Wnt/ β -Catenin Signaling and Promotes Colorectal Cancer Progression Via Interacting With DDX5. *Journal of Hematology & Oncology*, 11(113), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0656-7>
- Zhang, Y.-L., Liu, L., Peymanfar, Y., Anderson, P., & Xian, C.J. (2021). Roles of MicroRNAs in Osteogenesis or Adipogenesis Differentiation of Bone Marrow Stromal Progenitor Cells. *International Journal of Molecular Science*, 22(13), 7210. <https://doi.org/10.3390/ijms22137210>
- Zyla, R.E., Olkhov-Mitsel, E., Amemiya, Y., Bassiouny, D., Seth, A., Djordjevic, B., Nofech-Mozes, S., & Parra-Herran, C. (2021). CTNNB1 Mutations and Aberrant β -Catenin Expression in Ovarian Endometrioid Carcinoma: Correlation With Patient Outcome. *The American*

Journal of Surgical Pathology, 45(1), 68-76.
<https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001553>

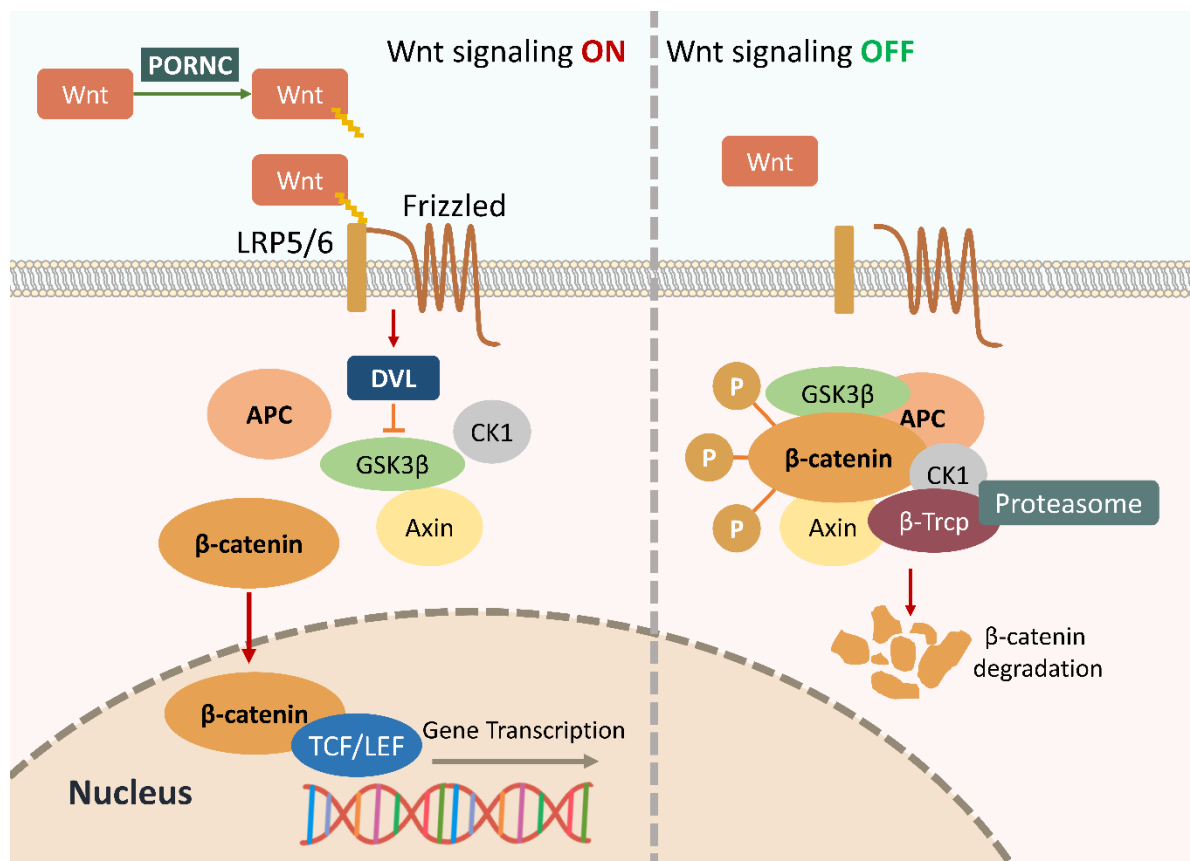


Figure 1. Schematic representation of the Wnt/ β -catenin pathway in activated and inhibited status. Adapted from (Alharbi *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021) under [Creative Commons Attribution License](#), created with Microsoft PowerPoint 2016.

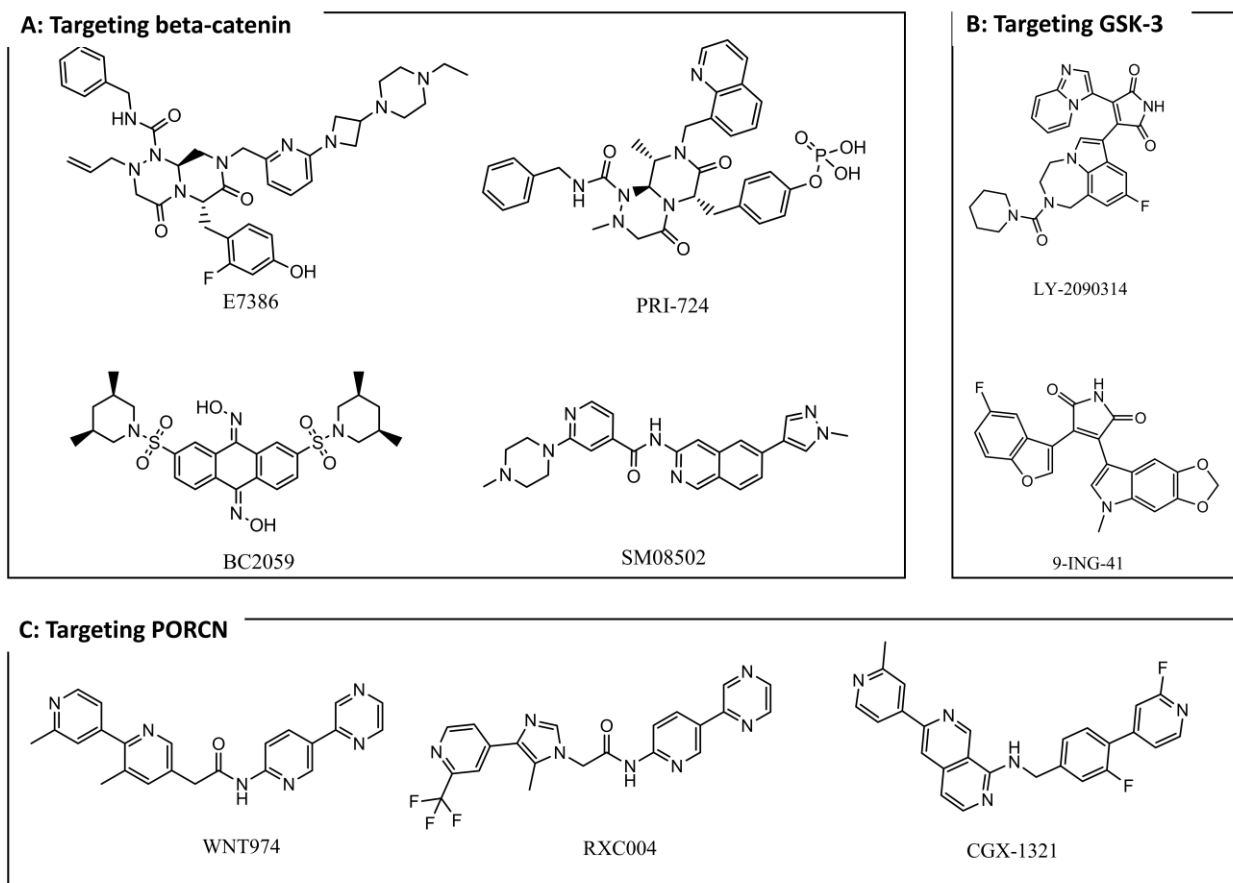


Figure 2. Small molecules used in clinical trials targeting WNT signaling pathway. Chemical structure of small molecules targeting: (A) beta-catenin, (B) GSK-3, (C) PORCN.

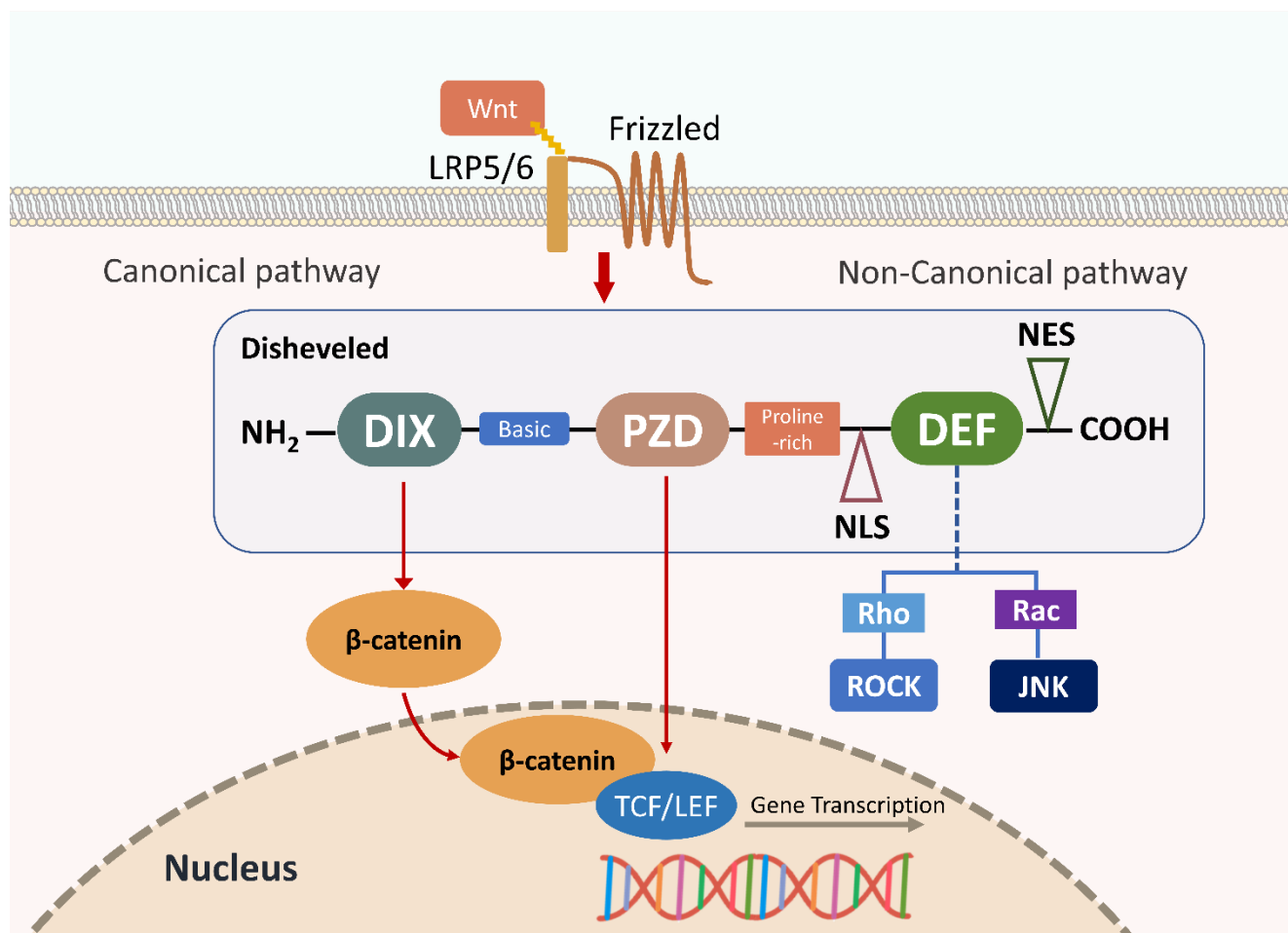


Figure 3: schematic summary of the Disheveled protein mechanism in the context of Wnt signal interaction. Adapted from (Alharbi *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021) under [Creative Commons Attribution License](#), created with Microsoft PowerPoint 2016.

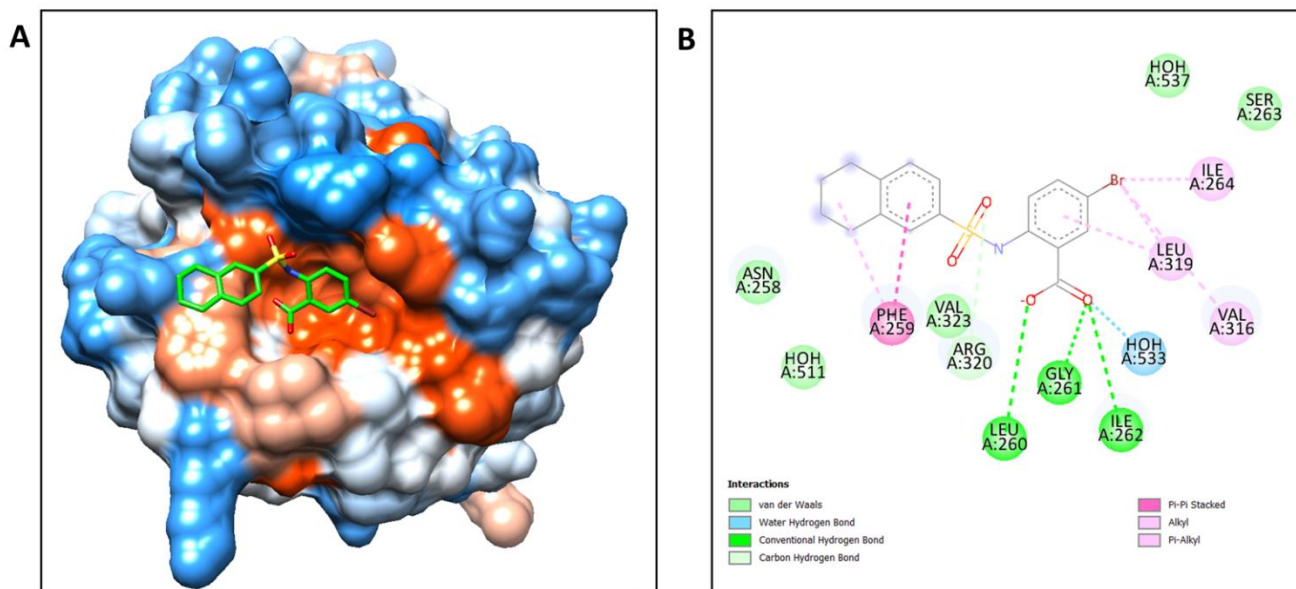


Figure 4: An example of Disheveled protein inhibitor, bound at PZD domain. A: Three-dimensional model in hydrophobicity view of the binding site of Disheveled PZD domain. B: Two-dimensional intermolecular interactions between ligand and amino acid residues at binding site of PZD domain.

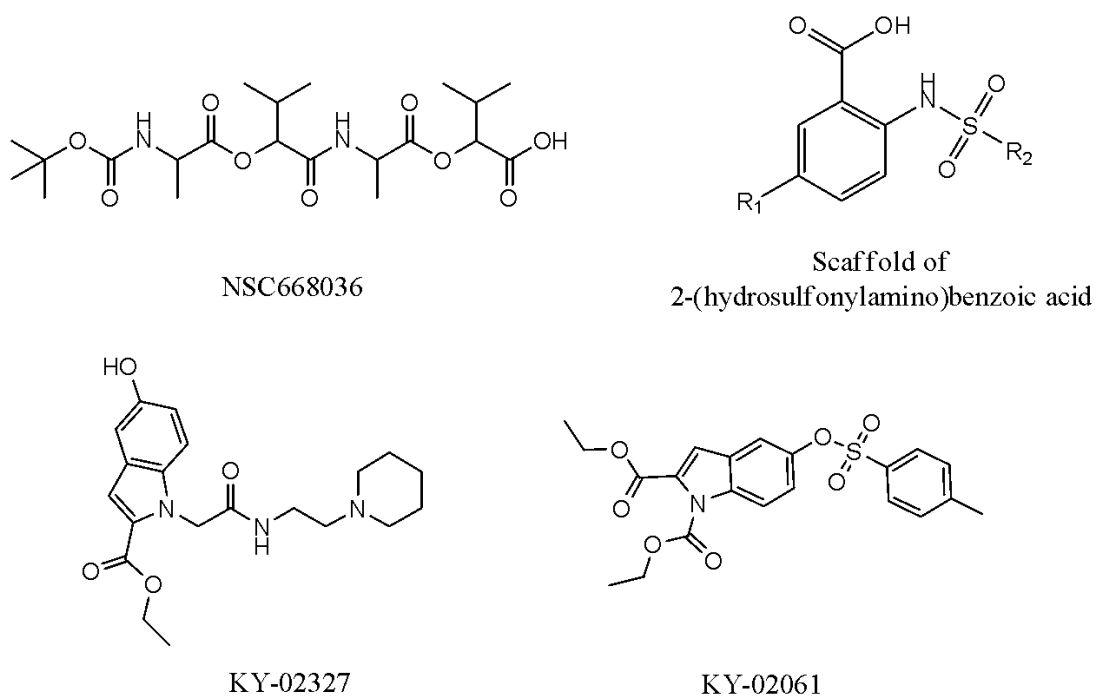


Figure 5: Small-molecules developed as Disheveled PZD domain inhibitors

**Table 1:** Clinical trials of small-molecules targeting wnt signaling pathway for anticancer activities

Agent name	Target or action	Cancer type	Phase	References
WNT974	PORCN inhibitor	Various types of cancer	I	(NCT01351103, 2023; Rodon <i>et al.</i> , 2021)
WNT974	PORCN inhibitor	Metastatic colorectal cancer	II	(NCT02278133, 2017; Tabertero <i>et al.</i> , 2023)
RXC004	PORCN inhibitor	Solid tumor	I	(Cook <i>et al.</i> , 2021; NCT03447470, 2023)
XNW7201	PORCN inhibitor	Advanced solid tumors	I	(NCT03901950, 2023)
BC2059 (Tegavivint)	β -Catenin	Desmoid tumor	I	(Cranmer <i>et al.</i> , 2022; NCT03459469, 2023)
E7386	β -Catenin	Colorectal neoplasms	I	(Kondo <i>et al.</i> , 2023; NCT03833700, 2023)
E7386	β -Catenin	Advanced neoplasms	I	(NCT03264664, 2023)
E7386	β -Catenin	Hepatic neoplasms	I	(Ikeda <i>et al.</i> , 2023; NCT04008797, 2023)
9-ING-41	GSK-3 inhibitor	Refractory cancer, pediatric cancer and neuroblastoma	I	(DeNardo <i>et al.</i> , 2022; NCT04239092, 2023)
9-ING-41	GSK-3 inhibitor	Myelofibrosis	II	(NCT04218071, 2023)
9-ING-41	GSK-3 inhibitor	Various type of cancer	I, II	(Mahalingam <i>et al.</i> , 2022; NCT03678883, 2023)
ETC-1922159	PORCN inhibitor	Solid tumor	I	(NCT02521844, 2023; Tan <i>et al.</i> , 2023)
CGX1321	PORCN inhibitor	Solid tumors and gastrointestinal cancer	I	(Giannakis <i>et al.</i> , 2023; NCT02675946, 2022)
CGX1321	PORCN inhibitor	Various types of gastrointestinal cancer	I	(Giannakis <i>et al.</i> , 2023; NCT03507998, 2020)
SM08502	β -Catenin controlled gene expression inhibitor	Solid tumors	I	(NCT03355066, 2022; Tam <i>et al.</i> , 2020)
CWP232291	β -Catenin	Acute myeloid leukemia	I, II	(Cortes <i>et al.</i> , 2015; NCT03055286, 2021)
CWP232291	β -Catenin	Multiple myeloma	I	(NCT02426723, 2019; Yoon <i>et al.</i> , 2017)
CWP232291	β -Catenin	Acute myeloid leukemia, chronic myelomonocytic leukemia, myelodysplastic syndrome and myelofibrosis	I	(Cortes <i>et al.</i> , 2015; Rodon <i>et al.</i> , 2021)
LY2090314	GSK-3	Advanced cancer	I	(Gray <i>et al.</i> , 2015; NCT01287520, 2019)
LY2090314	GSK-3	Pancreatic cancer	I, II	(NCT01632306, 2012)
LY2090314	GSK-3	Leukemia	II	(NCT01214603, 2018; Rizzieri <i>et al.</i> , 2016)
PRI-724	β -Catenin	Pancreatic cancer	I	(Ko <i>et al.</i> , 2016; NCT01764477, 2017)
PRI-724	β -Catenin	Acute myeloid leukemia and chronic myeloid leukemia	I, II	(NCT01606579, 2017)
PRI-724	β -Catenin	Colorectal cancer	II	(NCT02413853, 2017)
PRI-724	β -Catenin	Advanced solid tumors	I	(El-Khoueiry <i>et al.</i> , 2013; NCT01302405, 2017)



Pharmacological and molecular mechanism of *Syzygium polyanthum* leaves as antihypertensive with network pharmacology approach

Prisnu Tirtanirmala^{1*}, Abdul Mun'im^{1,2}, Firdayani³

¹Faculty of Pharmacy Universitas Indonesia, Depok, West Java, Indonesia

²Department of Pharmacognosy-Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

³Research Center for Vaccine and Drugs, National Research and Innovation Agency (BRIN), South Tangerang, Indonesia

*Corresponding author: prisnunirmala@gmail.com

Abstract

Background: In Central Sulawesi, Indonesia, *Syzygium polyanthum* leaves (SPL) have been traditionally used by society to reduce high blood pressure. However, the molecular mechanism behind this effect still remains unclear.

Objective: This study aims to explore the antihypertensive molecular mechanisms of SPL using a network pharmacology approach.

Method: Previous studies have investigated some bioactive compounds contained in SPL. Those studies identified 57 bioactive compounds, of which 31 were filtered for further analysis. Target proteins from SPL and disease were identified using GeneCards. Then, 62 selected target proteins which overlapped through Venn diagrams would be analyzed using Cytoscape software to produce compounds-target proteins' network. Protein-protein interactions were assessed using STRING and visualized by Cytoscape. GO Function and KEGG Pathways were obtained using ShinyGo.

Results: The results of this study revealed pathways associated with hypertension through the cellular senescence pathway with target proteins mTOR, ERK (also known as MAPK), p53, Cdc2, and IL6. The chemical constituents associated with these target proteins are hydroxychavicol, farnesol, naphthalene, phloretin, pyrogallol, and decanal, which were identified as compounds closely related to the target protein of hypertension.

Conclusion: The bioactive compounds in SPL play a significant role in regulating hypertension by influencing various target genes, particularly those associated with cellular senescence.

Keywords: Antihypertensive, bay leaf, cellular senescence, network pharmacology, *Syzygium polyanthum*

1. Introduction

Hypertension is a disease with a high prevalence rate, not only in Indonesia but also all over the world. The number of hypertensive patients is increasing every year and is estimated to reach 1.56 billion in 2025 worldwide (Kearney *et al.*, 2005; Ventura & Lavie, 2019). Hypertension can also be a comorbid disease of other diseases such as heart disease, stroke, chronic kidney disease, central organ damage, and various other secondary diseases (Di Palo & Barone, 2020; Fan *et al.*, 2019; Pistoia *et al.*, 2016; Wenzel *et al.*, 2017), which can cause damage and affect the patient's life.

Currently, antihypertensive drugs are divided into five categories based on their pharmacological mechanisms. These categories include β -blockers, diuretics, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists, and calcium channel blockers. Unfortunately, while these drugs offer beneficial effects, they can also cause side

effects. These side effects such as for diuretic category drugs can result uremia and hyperglycemia (Blowey, 2016). Other side effects such as brain freeze and risk of Alzheimer's disease (Rouzaud-Laborde *et al.*, 2018). Therefore, there is a need to develop a new and safe antihypertensive drug.

On the other hand, traditional antihypertensive treatment has been used for many years in Indonesia. One of those traditional formula is infusion of *Syzygium polyanthum* leaves (SPL) which has been recorded in the Original Indonesian Herbal Medicine Formulary (Formularium Obat Herbal Asli Indonesia Volume III, 2013). This formula comes from Central Sulawesi Province. Traditionally, people with hypertension boil leaves of SPL and drink it twice a day, morning and night. On the other hand, from the previous literature, SPL extract contains the bioactive compounds squalene, hexadecenoic acid, methyl ester, 9,12-Octadecadienoic acid, vitamin E, stigmasterol (Widyawati *et al.*, 2022). An in vivo study revealed that SPL can reduce blood pressure (Ismail & Wan Ahmad, 2017).

Network pharmacology is a tool developed based on biological and pharmacological systems from various directions. This means that the exploration of mechanisms will focus on many proteins/genes that are targeted by a drug/compound, not just on one specific target (Luo *et al.*, 2020). This study aims to utilize the network pharmacology method associated with SPL for treating hypertension, particularly focusing on the active compounds of SPL against targets related to hypertension. The general workflow of this study presents in Figure 1. Hopefully, the results of this study can provide a reference for further pre-clinical and clinical research.

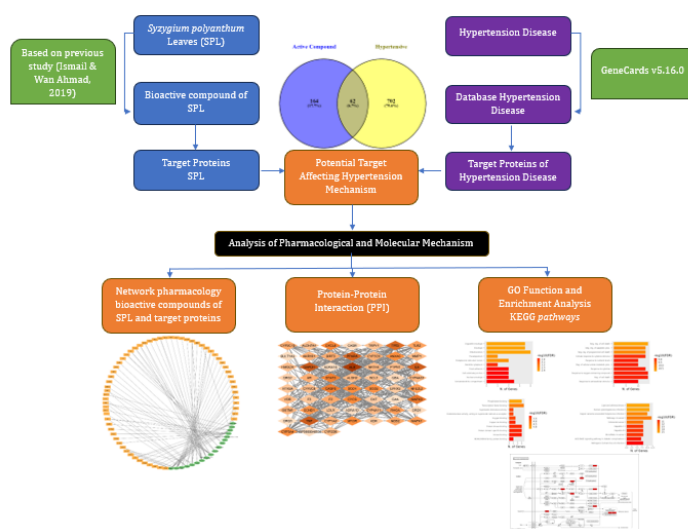


Figure 1. General workflow network pharmacology SPL against hypertension

2. Methodology

2.1 Bioactive compounds in *Syzygium polyanthum*

Bioactive compounds contained in SPL were obtained from previous studies (Ismail & Wan Ahmad, 2019). The simplified-molecular-input-line-entry-specification (SMILES) of all the compounds collected was traced via PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) and the pharmacokinetic data of all the compounds was obtained through pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>). While toxicity data profile was obtained through Tox-Prediction (https://tox-new.charite.de/prottox II/index.php?site=compound_input). After all these data were collected, data was filtered based on pharmacokinetic principles and the Lipinsky rules of five such as molecular weight (< 500 Dalton), LogP (< 5), hydrogen bond acceptors (< 10), hydrogen bond donors (< 5), intestinal absorption (human) (≥ 80), VDss (human) (> -0.15), CYP2D6 substrate (No), renal OCT2 substrate (No), and toxicity prediction category (> 3). All databases were accessed on June 10, 2023.

2.2 Collection of protein target from bioactive compound

After obtaining the bioactive compounds that have been filtered based on the previous method described, then the proteins target of bioactive compounds was also obtained. Protein target from bioactive compound SPL were collected using GeneCards v5.16.0 (<https://www.genecards.org/>) (accessed on June, 10 2023). Top 25 target proteins were selected from among the many target proteins displayed.

2.3 Collection of protein target database related to hypertension disease

Protein target related to hypertension disease were obtained through GeneCards v5.16.0 (<https://www.genecards.org/>) by entering the keywords “hypertensive” and “high blood pressure” in the target protein search field. The target proteins associated with the two keywords were collected for further analysis. This involved compiling data from both sets and removing any duplicates. The results of that compilation were then intersected with the target protein from the bioactive compound SPL which had been obtained in the previous stage. The intersection was performed using Venny 2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>). All databases were accessed on June, 10 2023.

2.4 Compound and protein target construction network

To understand the molecular mechanism of the active compound in SPL, an analysis of the connection between the active compound and the target protein was carried out using software Cytoscape v3.10.0. Later, the results of network interactions between the active compounds and the target protein will be obtained. The existence of this interaction is indicated by a line connecting the two (active compound and target protein).

2.5 Protein-protein interaction network

At this stage, the results of interactions between proteins will be obtained, named as Protein-Protein Interaction (PPI). The interactions were obtained using STRING v11.5 (<https://string-db.org/>) (accessed on June, 10 2023). The PPI network is obtained by selecting the minimum required interaction score ≥ 0.4 . The PPI results will provide visual data along with scores for Degree Centrality, Closeness Centrality, and Betweenness Centrality. For each protein, the scores from these three categories are combined. Proteins with a total score of ≥ 3 are selected, resulting in the top 20 target proteins.

2.6 Enrichment analysis through GO functions and KEGG pathways

Functional enrichment analysis of gene ontology (GO) and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG pathways) were collected using ShinyGo v0.77 (<http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>) (accessed on June, 10 2023). This method was done to determine the potential targets that should be used in the treatment of hypertension. Enter the names of the selected target genes (those with the top 20 highest scores from the previous PPI analysis) in the search field and select the species "human". After that, it was analyzed based on Biological Process (BP), Cellular Component (CC), Molecular Function (MF), and KEGG. From KEGG pathways, we can find out the potential bioactive compounds that have significant role in molecular pathway of this disease. These compounds were collected by tracing the protein target of bioactive compound that related to protein target showed in KEGG pathways with red color.

3. Results and discussion

The Indonesian people, especially those from Poso Regency, Central Sulawesi Province, used the infusion of SPL to reduce high blood pressure for many years. The SPL formula contains

multiple components and multiple targets that align with hypertension disease. However, investigating the pharmacological and molecular mechanism have its own challenges. Network pharmacology, as a tool for exploring this mechanism, could potentially be an effective method for unveiling the mechanisms of SPL against hypertension. In this study, a network pharmacology approach was used to identify the bioactive compounds in SPL as well as potential targets, and to explore the potential mechanisms of SPL in the treatment of hypertension.

Previous study revealed that infusion of SPL given orally to Wistar strain rats with hypertension models at doses of 0.01, 0.1, 1 and 10 mg/mL gave the greatest aortic vasorelaxation effect at a dose of 10 mg/mL with a relaxation percentage of 72.58% ($p < 0.001$) (Ismail & Wan Ahmad, 2016). Similarly, other research related to toxicity SPL, methanol extract of SPL showed liver damage in male rats at dose 2000 mg/kg (Harun *et al.*, 2021). However, the mechanism that plays a role in reducing high blood pressure from the bioactive compound SPL is still unknown (Ismail & Wan Ahmad, 2016).

3.1 Bioactive compounds in *Syzygium polyanthum*

There are 57 bioactive compounds contained in SPL according to previous studies (Ismail & Wan Ahmad, 2019). The prediction of physicochemical and pharmacokinetic properties was carried out through pkCSM database while the prediction of toxicological properties was carried out through Tox-prediction database. Among the 57 bioactive compounds, molecular weight range from 76.095 to 436.853 g/mol. Propylene glycol has the lowest molecular weight, while hentriacontane boasts the highest. Furthermore, 41 compounds exhibited LogP values below 5, 56 compounds had HBA values below 10, and all 57 compounds had HBD values less than 5. The results of the bioactive compounds that had been filtered for several parameters are 38 compounds and shown in Table 1. Meanwhile, the number of bioactive compounds that met the pharmacokinetic and toxicological screening criteria were 31 compounds and shown in Table 2. Out of 31 compounds, 12 of them belong to the terpenoid group. Terpenoid compounds which can also be found from other plant essential oils have been shown to have an activity on reducing blood pressure in rats (Menezes *et al.*, 2010).

Table 1. Physicochemical properties of bioactive compounds that meets screening criteria

No	Compound	PubChem ID	BMt	logP	Rotatable Bonds	HBA	HBD	Surface Area
1	1-(2,3,5-trihydroxy methylphenyl)octane-1-one	132281267	294,391	2.7067	10	4	3	125,99
2	1-(2,3,5-trihydroxy-4-methylphenyl)decan-1-one	129862762	294,391	4.43522	9	4	3	125,99
3	1-(2,3,5-trihydroxy-4-methylphenyl)hexane-1-one	132275589	238,283	2.87482	5	4	3	100,53
4	1H cyclopropa[a]naphthalene	12343165	140,185	2,744	0	0	0	65,472
5	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	119838	144,126	-0.2639	0	4	2	57,732
6	4-allyl-1,2-dihydroxybenzene (hydroxychavicol)	70775	150,177	1.8263	2	2	2	65,425
7	4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid	10947890	198,174	1.1076	3	4	2	80503
8	4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid	8468	168,148	1,099	2	3	2	69,025
9	Azulene	9231	128,174	2.7914	0	0	0	60,468
10	Caffeic acid	689043	180,159	1.1956	2	3	3	74,381
11	Caryophyllene oxide	1742210	220,356	3.9364	0	1	0	99,255
12	Decanal	8175	156,269	3,326	8	1	0	70,185
13	Farnesol	445070	222,372	4.3979	7	1	1	100,574
14	gallic acid	370	170,12	0.5016	1	4	4	67,135
15	Heptane	8900	100,205	2.9767	4	0	0	46,929
16	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) (palmitin)	129853056	330,509	4.3641	17	4	2	142,172
17	Humulene epoxide II	10704181	220,356	4.2466	0	1	0	99,571
18	Linalool	6549	154,253	2.6698	4	1	1	69,439
19	Nerolidol	5284507	222,372	4.3963	7	1	1	100,574
20	n-heptanal	8130	114,188	2.1557	5	1	0	51,09
21	Octanal	454	128,215	2.5458	6	1	0	57,455
22	Phloretin	4788	274,272	2.3245	4	5	4	114,922
23	Propylene glycol	1030	76,095	-0.6405	1	2	2	31058
24	Pyrogallol	1057	126,111	0.8034	0	3	3	51,814
25	Selina-4,11-diene (naphthalene)	931	128,174	2.8398	0	0	0	60,113
26	Valencia	9855795	204,357	4.7252	1	0	0	94,458
27	α -caryophyllene	5281520	204,357	5.0354	0	0	0	94,774
28	α -copaene	19725	204,357	4.2709	1	0	0	94,141
29	α -cubebene	442359	204,357	4.2709	1	0	0	94,141
30	α -paninsene	578929	204,357	4.5591	0	0	0	94,141
31	α -pinene	6654	136,238	2.9987	0	0	0	63,322
32	α -selinene	10856614	204,357	4.7252	1	0	0	94,458
33	α -zingiberene	11127403	204,357	4.8913	4	0	0	94,774
34	β -caryophyllene	5281515	204,357	4.7252	0	0	0	94,458
35	β -panasinsene	595133	204,357	4.5591	0	0	0	94,141
36	β -selinene	442393	204,357	4.7252	1	0	0	94,458
37	δ -cadinene	441005	204,357	4.7252	1	0	0	94,458

Table 2. Pharmacokinetic properties of bioactive compounds that meet screening criteria

Compound	Water solubility	GI absorption	VDSs	BBB permeability	CYP2D6 inhibitors	Skin Permeability	Total Clearances	Renal OCT2 substrates	Predicted LD50 (mg/kg)	Predicted Toxicity Class
2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	-0.699	83,475	0.017	-0.3	No	-3,722	0.505	No	595	4
n-heptanal	-2,406	95,432	0.115	0.546	No	-1,571	0.464	No	5000	5
Pyrogallol	-1,408	83,549	0.13	-0.441	No	-2,751	0.104	No	300	3
Linalool	-2,612	93,163	0.152	-0.598	No	-1,737	0.446	No	2200	5
Octanal	-3,059	95,081	0.18	0.668	No	-1,391	1.53	No	5000	5
Decanal	-4,337	94,394	0.288	0.705	No	-1,319	1,608	No	5000	5
Heptane	-3,639	94,145	0.291	0.77	No	-1,169	1,483	No	750	3
Farnesol	-5,393	91,531	0.36	0.66	No	-1,514	1,754	No	5000	5
Nerolidol	-5,176	91,887	0.37	0.652	No	-1,477	1,739	No	5000	5
Humulene epoxide II	-4,162	95,737	0.46	0.669	No	-2,988	1,065	No	5000	5
4-allyl-1,2-dihydroxybenzene (hydroxychavicol)	-1,379	92.09	0.477	0.361	No	-2,523	0.206	No	1930	4
Selina-4,11-diene (naphthalene)	-3,496	95157	0.488	0.434	No	-1,433	0.198	No	316	4
α -caryophyllene	-5,191	94,682	0.505	0.663	No	-1,739	1,282	No	3650	5
Azulene	-3,654	95,451	0.519	0.77	No	-1,649	0.208	No	300	5
Caryophyllene oxide	-4,433	95,421	0.586	0.654	No	-3,076	0.905	No	5000	5
1-(2,3,5-trihydroxy-4-methylphenyl)hexane-1-one	-2.4	91,194	0.594	-0.934	No	-2,777	0.334	No	3320	5
α -zingiberene	-5,967	95561	0.629	0.796	No	-1,273	1,441	No	1680	4
β -selinene	-6,439	85,574	0.639	0.816	No	-1,702	1,174	No	5000	5
1-(2,3,5-trihydroxy-4-methylphenyl)decan-1-one	-3,032	89.8	0.646	-1,051	No	-2,756	1021	No	3320	5
β -caryophyllene	-5,555	94,845	0.652	0.733	No	-1.58	1,088	No	5300	5
α -pinene	-3,733	96041	0.667	0.791	No	-1,827	0.043	No	3700	5
β -panasinsene	-6.103	94,914	0.682	0.825	No	-2,086	0.866	No	5000	5
α -selinene	-6,074	94,127	0.686	0.776	No	-1,461	1.172	No	5000	5
Valencia	-6,074	94,127	0.686	0.776	No	-1,461	1.205	No	5000	5
δ -cadinene	-5,915	96128	0.689	0.773	No	-1,462	1,182	No	4390	5
α -cubebene	-5,968	95,964	0.717	0.86	No	-1,997	0.98	No	5000	5
1H cyclopropa[a]naphthalene	-3,825	96028	0.719	0.463	No	-1,736	0.13	No	2250	5
Phloretin	-3,077	60.5	0.765	-0.927	No	-2,735	0.213	No	500	4
α -paninsense	-5,774	94,759	0.78	0.792	No	-1,743	0867	No	5000	5
α -copaene	-5,705	96,221	0.806	0887	No	-2,225	0.95	No	3700	5
1-(2,3,5-trihydroxy methylphenyl)octane-1-one	-2,972	93,636	0.825	-0.829	No	-2,775	1,427	No	2220	5

3.2 Collection of bioactive compounds dan disease target protein

There are 226 target proteins from bioactive compounds contained in SPL that obtained from GeneCards. Meanwhile, the target protein for hypertension was also obtained using

GeneCards with the 2 keywords “hypertensive” and “high blood pressure”. Each of these keywords is taken from 1000 target protein data with the highest score. 2000 target proteins from each keyword were then remove duplicate data and 764 target proteins were collected. The 764 target proteins were then intersected with 226 target proteins belong to the bioactive compound SPL, resulting overlapped 62 target proteins were obtained (Figure 2).

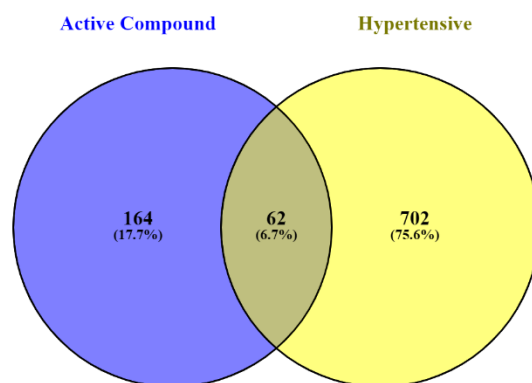


Figure 2. Venn diagram of slices between target proteins for hypertension disease and target proteins of bioactive compounds

3.3 Construction of compound-target network

The intersection between the bioactive compound (which already met the previous requirements criteria) to the target protein (venn diagram intersection results) was then analyzed using Cytoscape software to construct the network. The results of this network of bioactive compounds with target proteins are shown in Figure 3. There are 80 nodes and 87 edges, where each oval shape and green color represents bioactive compounds. While the square shaped and orange color represents the target protein. From the network results, there are 87 interactions between bioactive compounds and target proteins which are indicated by straight lines in gray. This shows that the bioactive compounds contained in SPL may work synergistically on several targets so that they can produce pharmacological effects on hypertension. From the network construction results, it was found that naphthalene compounds have interactions with the highest number of target proteins, which is 10 interactions. This is followed by phloretin, which has 9 interactions. Decanal and farnesol have 8 interactions each. Then, pyrogallol and octanal have 7 and 6 interactions, respectively. From the target proteins perspective, it was found that target protein with the highest interactions were CYP3A4, HMGCR, SOD1, ALB, CYP21A2, XDH and ANXA5, they have 3 interactions in each.

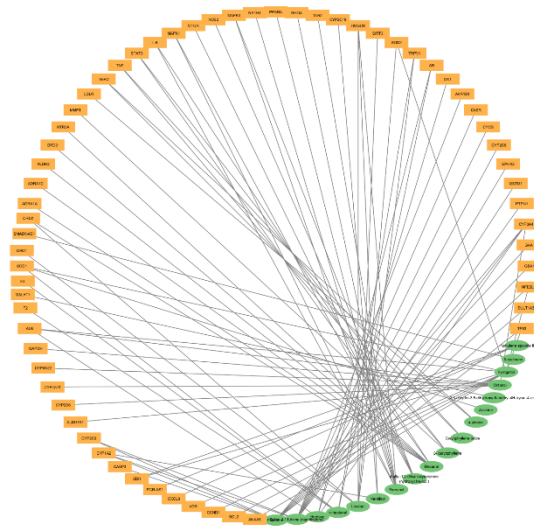


Figure 3. Cytoscape visualization of the relationship between bioactive compounds and target proteins for hypertension disease

3.4 Protein-protein interaction network

The 62 target proteins resulting from the Venn intersection (Figure 2) were further analyzed using STRING to see the interactions between these target proteins. From the results of the STRING, tsv format file have been downloaded, which will then be further analyzed and visualized using Cytoscape software. There are 59 nodes and 430 edges, where each node represents the target protein and the edges represent the number of interactions between the target proteins. The PPI results are presented in Figure 4. The tsv format file download from STRING contains information about the degree, betweenness centrality, and closeness centrality scores. The sum of those three categories was done. Visualization from Cytoscape shows the different colors of each node, the darker the node color, the higher the total degree, betweenness centrality and closeness centrality scores. On the other hand, the lighter the color shown at the node, the lower the value of degree, betweenness centrality, and closeness centrality. The details of the scores along with the number of degrees, betweenness centrality, and closeness centrality of each target protein are shown in Table 3. The highest number of scores is in the albumin target protein (ALB) with a total score of 45.033, while the Alpha Glucosidase (GAA) target protein has the lowest value in 1.348.

Table 3. Value result of degree, betweenness centrality, and closeness centrality protein targets

Number	Protein name	Betweenness Centrality	Closeness Centrality	Degrees	Total
1	ALB	0.209149459	0.823529412	44	45.0327
2	GAPDH	0.066575313	0.7	35	35.7666
3	IL6	0.05618581	0.708860759	35	35,765
4	TNF	0.048932441	0.7	35	35.7489
5	PPARA	0.076618359	0.674698795	33	33.7513
6	TP53	0.041986125	0.651162791	31	31.6931
7	MAPK3	0.021296963	0.636363636	28	28.6577
8	CASP3	0.008709343	0.615384615	26	26.6241
9	STAT3	0.009466062	0.608695652	25	25.6182
10	CXCL8	0.009371602	0.608695652	24	24.6181
11	CYCS	0.008527892	0.595744681	23	23.6043
12	SOD1	0.01744979	0.602150538	22	22.6196
13	MTOR	0.002989225	0.589473684	22	22.5925
14	ANXA5	0.007723095	0.577319588	22	22,585
15	CYP3A4	0.034169902	0.602150538	21	21.6363
16	SOD2	0.008633341	0.589473684	21	21.5981
17	CCND1	0.003818946	0.577319588	20	20.5811
18	MAPK1	0.00411499	0.571428571	18	18.5755
19	NFE2L2	0.001956391	0.565656566	18	18.5676
20	RHOA	0.003655302	0.554455446	18	18.5581

Based on the topological analysis of the PPI network, the results revealed several target proteins associated with bioactive compounds for hypertension. Notably, proteins like ALB (albumin), IL6 (Interleukin 6), GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase), and TNF (Tumor Necrosis Factor) exhibited the highest degree scores. Among these target proteins, ALB in urine can be used as a marker to predict the development of high blood pressure and an increase in high blood pressure in patients (Takase *et al.*, 2015). Meanwhile, the GAPDH target protein has an important role in $[Ca^{2+}]_i$ signaling in cases of pulmonary arterial hypertension (Tan *et al.*, 2013). In TNF target proteins, especially TNF- α , which is a pleiotropic cytokine that can increase in chronic inflammatory conditions such as hypertension and can play a role in mediating the increase and decrease in blood pressure (Ramseyer & Garvin, 2013).

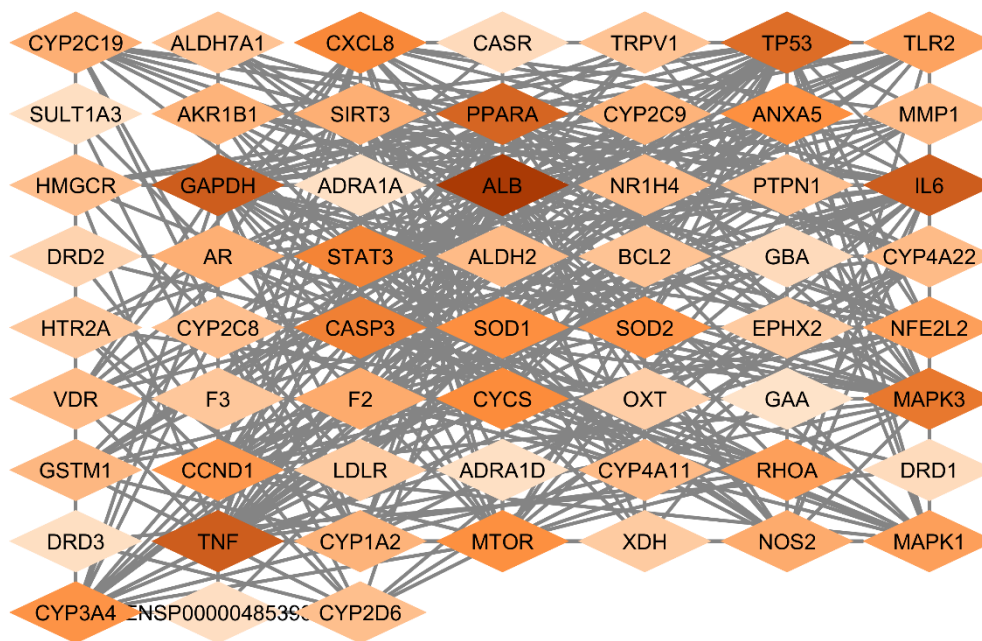


Figure 4. PPI network between protein targets of bioactive compounds and hypertension analyzed using STRING and visualized using Cytoscape

3.5 GO Functions and KEGG pathways

Enrichment analyzes GO and KEGG were conducted on the top 20 target proteins, identified by their highest scores in Degree, Betweenness Centrality and Closeness Centrality (Table 3), with a confidence level ($P < 0.05$). This analysis was performed using ShinyGo and the results of 20 types of gene action were graphically displayed in a bar chart. The X-axis indicates the number of genes involved, while the Y-axis illustrates the distribution of gene action types. In the GO Biological Process graph (Figure 5A), the predominant genes were associated with the negative regulation of cell death. Conversely, the GO Cell Composition chart (Figure 5B) highlighted the mitochondrion as the primary location for these genes. For GO Molecular Function (Figure 5C), the majority of genes were related to transcription factor binding. Meanwhile, the KEGG pathways enrichment chart (Figure 5D) showcased cancer mechanisms as the most represented pathway. This observation aligns with findings by Mohammed *et al.*, suggesting a connection between hypertension and cancer mechanism. Given that the hypertension is a recognized risk factor for cardiovascular disease, its prominence in cancer patient morbidity and mortality is increasingly evident (Mohammed *et al.*, 2022).

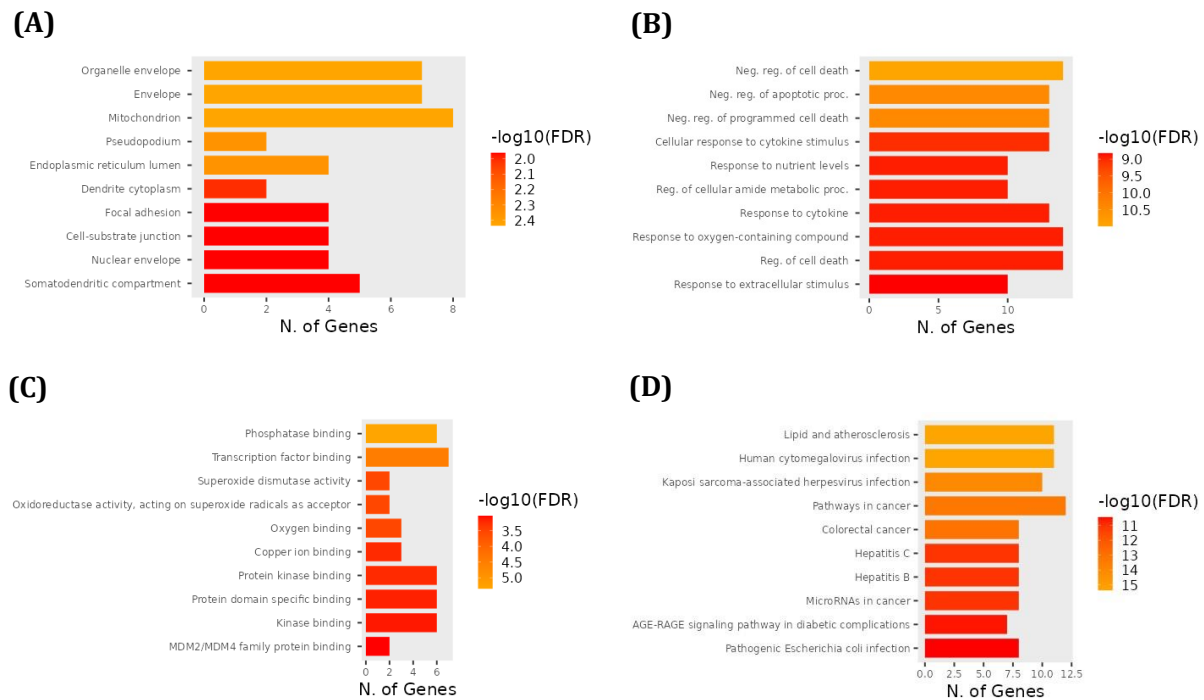


Figure 5. Enrichment analysis results gene ontology. A: GO biological process; B: GO Cell composition; C: GO molecular function; D: KEGG enrichment (Ge *et al.*, 2020; Luo & Brouwer, 2013)

From the result of KEGG pathway, mechanism related to the hypertension disease was through cellular senescence (Figure 6). Cellular senescence refers to the cessation of regular cell division and is frequently connected with the process of getting older. It plays a crucial role in maintaining balance within the body. Nevertheless, when senescence becomes excessive and unregulated, it has the potential to promote the development and/or persistence of hypertension by accelerating the relative aging of blood vessels. For example, the role of cellular senescence in lung can stimulate pulmonary hypertension (McCarthy *et al.*, 2019; Roger *et al.*, 2021).

The genes in red box (Figure 6) were the genes that relate with bioactive compounds contained in SPL. Those genes were mTOR, ERK (also known as MAPK), p53, CycD and IL6. mTOR, p53 and NF- κ B can develop an interaction with Akt. Akt can be a specific target for proliferation, differentiation, apoptosis and promotion related to tissue regeneration and include in PI3K-signaling pathway as an important signal transduction (Ramseyer & Garvin, 2013; Stannus *et al.*, 2010). A critical component of renin-angiotensin system (RAS), named renin, can regulate blood pressure through PI3K/Akt-eNOS signaling (Cheng *et al.*, 2012).

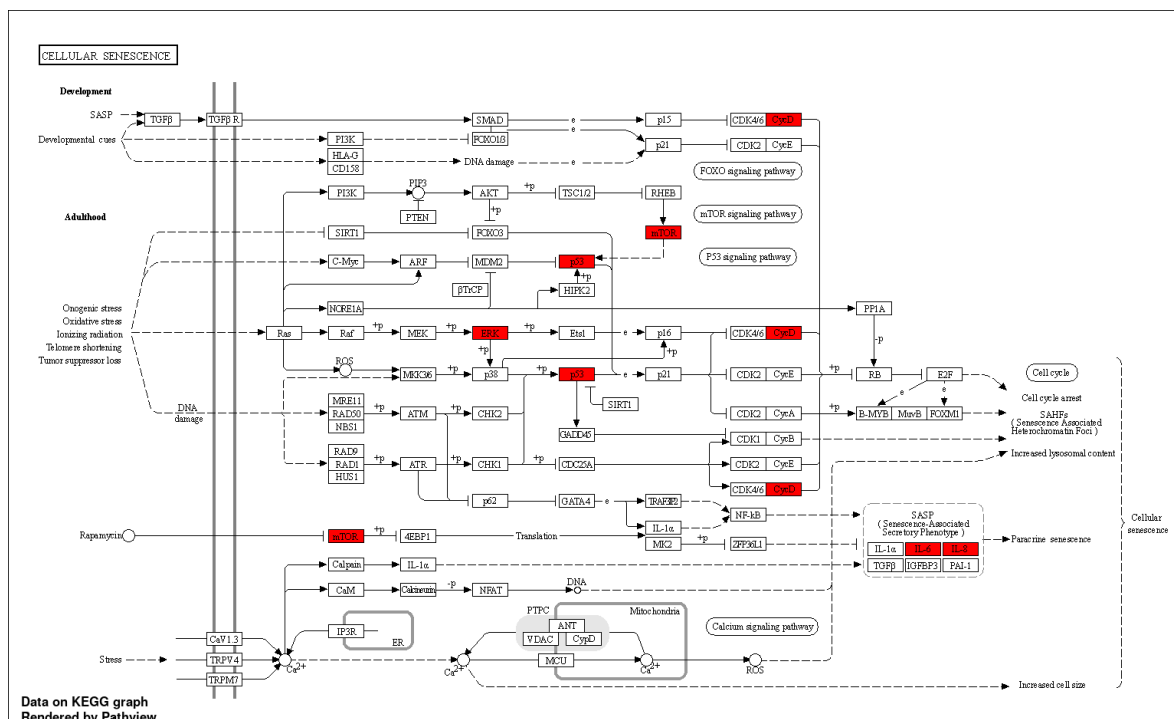


Figure 6. KEGG cellular senescence pathway (Kanehisa *et al.*, 2021)

The bioactive compounds that have interactions with those genes mentioned before were summarized in Table 4. Those compounds were hydroxychavicol, farnesol, naphthalene, phloretin, pyrogallol, and decanal. From the previous research that had been done using betel leaf, hydroxychavicol that contained in betel leaf, showed a good inhibition of both COX-1 and COX-2. Hydroxychavicol has the potential to prevent and to treat atherosclerosis and various cardiovascular diseases due to its anti-inflammatory properties (Chang *et al.*, 2007). In another study, a combination between hydroxychavicol and curcumin led to triggering the MAPK pathway and resulted in the mTOR production, ultimately leading to apoptosis in K562 cells (Chaudhuri *et al.*, 2014).

Table 4. List of target protein and bioactive compounds from result of KEGG

Target Protein	Bioactive Compounds in SPL
mTOR	Hydroxychavicol
ERK or MAPK	Farnesol, hydroxychavicol, naphthalene
p53	Pyrogallol, phloretin
CycD	Pyrogallol
IL6	Decanal, farnesol

The second bioactive compound of SPL that interact with MAPK and IL-6, farnesol, exhibits antihypertensive properties and reduce heart rate by interacting with muscarinic receptors by conduct hydrogen bond (Silva *et al.*, 2021). Muscarinic cholinergic receptors can

activate the MAP kinase (MAPK) pathway and induces cell proliferation and protein synthesis in human breast cancer cells (Jiménez & Montiel, 2005). It shows that farnesol literally have interaction with target proteins linked to hypertension. Meanwhile, naphthalene was considered as a potential factor linked to hypertension (Buckpitt *et al.*, 2010), but there is still limited study on this matter.

In *in vivo* study, phloretin can protect the heart muscle from injury and prevent alterations hemodynamic parameters linked with hypertension, induced by doxorubicin in rats. Additionally, the use of phloretin can also reduce the expression of pro-inflammatory cytokines, including cytokines that play a role in the hypertension pathway (Nakhate *et al.*, 2022).

Other study revealed that pyrogallol can caused cell cycle phase arrest, especially at G1 phase, and also increase p53 then triggered cell death (Park, 2016). Decanal, an aldehyde compound, exhibited the strongest positive correlation with IL-6 compared to benzyl alcohol and tetralin (Ahmed *et al.*, 2021). Meanwhile, animal studies have suggested that IL-6 plays a significant role in hypertension induced by angiotensin II (Chamarthi *et al.*, 2011). This suggest that decanal has potential role in hypertension pathway.

However, this research still needs to be continued into the molecular docking stage to further explore specific mechanisms of signaling pathways in hypertension, especially bioactive compounds SPL against potential target proteins in hypertension before continue in *in vitro* and/or *in vivo* experimental.

4. Conclusion

In this study, 31 bioactive compounds were obtained from SPL, where 12 of these bioactive compounds belong to the terpene group. From the PPI and KEGG analysis, 6 bioactive compounds of SPL and 5 target proteins in hypertension disease were identified and predicted to have strong potential in their role in the treatment of hypertension. The six compounds were hydroxychavicol, farnesol, naphthalene, phloretin, pyrogallol, and decanal. The 5 target proteins were mTOR, ERK (also known as MAPK), p53, CycD and IL6.

Reference

Ahmed, W., White, I.R., Wilkinson, M., Johnson, C.F., Rattray, N., Kishore, A.K., Goodacre, R., Smith, C.J., & Fowler, S.J. (2021). Breath and Plasma Metabolomics To Assess Inflammation In Acute Stroke. *Scientific Reports*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01268-5>

- Blowey, D.L. (2016). Diuretics In The Treatment of Hypertension. *Pediatric Nephrology*, 31(12), 2223–2233. <https://doi.org/10.1007/s00467-016-3334-4>
- Buckpitt, A., Kephelopoulos, S., Koistinen, K., Kotzias, D., Morawska, L., & Sagunski, H. (2010). *Naphthalene*. In: *WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants*, in: Geneva: World Health Organization. 4.
- Chamarthi, B., Williams, G.H., Ricchiuti, V., Srikumar, N., Hopkins, P.N., Luther, J.M., Jeunemaitre, X., & Thomas, A. (2011). Inflammation and Hypertension: The Interplay of Interleukin-6, Dietary Sodium, and the Renin–Angiotensin System in Humans. *American Journal of Hypertension*, 24(10), 1143–1148. <https://doi.org/10.1038/ajh.2011.113>
- Chang, M.C., Uang, B.J., Tsai, C.Y., Wu, H.L., Lin, B.R., Lee, C.S., Chen, Y.J., Chang, C.H., Tsai, Y.L., Kao, C.J., & Jeng, J.H. (2007). Hydroxychavicol, A Novel Betel Leaf Component, Inhibits Platelet Aggregation By Suppression of Cyclooxygenase, Thromboxane Production and Calcium Mobilization. *British Journal of Pharmacology*, 152, 73–82. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707367>
- Chaudhuri, J., Chowdhury, A.A., Biswas, N., Manna, A., Chatterjee, S., Mukherjee, T., Chaudhuri, U., Jaisankar, P., & Bandyopadhyay, S. (2014). Superoxide Activates mTOR-eIF4E-Bax Route To Induce Enhanced Apoptosis In Leukemic Cells. *Apoptosis* 19(1), 135–148. <https://doi.org/10.1007/s10495-013-0904-9>
- Cheng, W.-H., Lu, P.-J., Hsiao, M., Hsiao, C.-H., Ho, W.-Y., Cheng, P.-W., Lin, C.-T., Hong, L.-Z., & Tseng, C.-J. (2012). Renin Activates PI3K-Akt-eNOS Signalling Through The Angiotensin AT 1 and Mas Receptors To Modulate Central Blood Pressure Control In The Nucleus Tractus Solitarii. *British Journal of Pharmacology*, 166, 2024–2035. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01832.x>
- Di Palo, K.E., Barone, N.J. (2020). Hypertension and Heart Failure: Prevention, Targets, and Treatment. *Heart Failure Clinics*, 16(1), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2019.09.001>
- Fan, H., Lu, F., Yang, A., Dong, Y., Liu, P., & Wang, Y. (2019). A Review on the Nonpharmacological Therapy of Traditional Chinese Medicine with Antihypertensive Effects. Evidence-based Complement. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/1317842>
- Ge, S.X., Jung, D., Jung, D., & Yao, R. (2020). ShinyGO: A Graphical Gene-Set Enrichment Tool For Animals and Plants. *Bioinformatics*, 36(8), 2628–2629. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz931>
- Harun, N.H., Rasdi, N.A., Salleh, R.M., Safuan, S., Wan Ahmad, W.A.N., & Fuad, W.E.M. (2021). Subacute Toxicity Evaluation of Methanolic Extract of *Syzygium polyanthum* in Rats. *Tropical Life Sciences Research*, 32(2), 65–81. <https://doi.org/10.21315/tlsr2021.32.2.5>
- Ismail, A., & Wan Ahmad, W.A.N. (2019). *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp: A Potential Phytomedicine. *Pharmacognosy Journal*, 11(2), 429–438. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.67>
- Ismail, A., & Wan Ahmad, W.A.N. (2017). Autonomic Receptors and Nitric-Oxide Involvements in Mediating Vasorelaxation Effect Induced by *Syzygium polyanthum* Leaves Extract. *Pharmacognosy Research*, 9, 9–14. <https://doi.org/10.4103/pr.pr>
- Ismail, A., & Wan Ahmad, W.A.N. (2016). Vasorelaxation Effect of *Syzygium polyanthum* (wight) walp. Leaves Extract On Isolated Thoracic Aorta Rings of Normal and Hypertensive Rats. *IJUM Medical Journal Malaysia*, 15, 102. <https://doi.org/10.31436/imjm.v15i1.1264>
- Jiménez, E., & Montiel, M. (2005). Activation of MAP Kinase by Muscarinic Cholinergic Receptors Induces Cell Proliferation and Protein Synthesis in Human Breast Cancer Cells. *Journal of Cellular Physiology*, 204(2), 678–686. <https://doi.org/10.1002/jcp.20326>

- Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Ishiguro-Watanabe, M., & Tanabe, M. (2021). KEGG: Integrating Viruses and Cellular Organisms. *Nucleic Acids Research*, 49, 545–551. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa970>
- Kearney, P.M., Whelton, M., Reynolds, K., Muntner, P., Whelton, P.K., & He, J. (2005). Global Burden of Hypertension: Analysis of Worldwide Data. *Lancet*, 365(9455), 217–223. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)17741-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)17741-1)
- Luo, T. ting, Lu, Y., Yan, S. kai, Xiao, X., Rong, X. lu, & Guo, J. (2020). Network Pharmacology in Research of Chinese Medicine Formula: Methodology, Application and Prospective. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 26(1), 72–80. <https://doi.org/10.1007/s11655-019-3064-0>
- Luo, W., & Brouwer, C. (2013). Pathview: An R/Bioconductor Package For Pathway-Based Data Integration and Visualization. *Bioinformatics*, 29(14), 1830–1831. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt285>
- McCarthy, C.G., Wenceslau, C.F., Webb, R.C., & Joe, B. (2019). Novel Contributors and Mechanisms of Cellular Senescence in Hypertension-Associated Premature Vascular Aging. *American Journal of Hypertension*, 32(8), 709–719. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpz052>
- Menezes, I.A.C., Barreto, C.M.N., Antonioli, Â.R., Santos, M.R.V, & Sousa, D.P.D. (2010). Hypotensive Activity of Terpenes Found in Essential Oils. *Z Naturforsch C J Biosci*, 65(9-10), 562–566.
- Mohammed, T., Singh, M., Tiu, J.G., & Kim, A.S. (2022). Etiology and Management of Dyslipidemia in Patients With Cancer. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.892335>
- Nakhate, K.T., Badwaik, H., Choudhary, R., Sakure, K., Agrawal, Y.O., Sharma, C., Ojha, S., & Goyal, S.N. (2022). Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development of a Multitargeted Flavonoid Phloretin. *Nutrients*, 14, 1–24.
- Park, W.H. (2016). Pyrogallol Induces The Death of Human Pulmonary Fibroblast Cells Through ROS Increase and GSH Depletion. *International Journal of Oncology*, 49(2), 785–792. <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3543>
- Pistoia, F., Sacco, S., Degan, D., Tiseo, C., Ornello, R., & Carolei, A. (2016). Hypertension and Stroke: Epidemiological Aspects and Clinical Evaluation. *High Blood Pressure and Cardiovascular Prevention*, 23(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s40292-015-0115-2>
- Ramseyer, V.D., & Garvin, J.L. (2013). Tumor Necrosis Factor- α : Regulation of Renal Function and Blood Pressure. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 304(10), 1231–1242. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00557.2012>
- Roger, I., Milara, J., Belhadj, N., & Cortijo, J. (2021). Senescence Alterations in Pulmonary Hypertension. *Cells*, 10(12), 1–24. <https://doi.org/10.3390/cells10123456>
- Rouzaud-Laborde, C., Lafitte, P., Balardy, L., Czosnyka, Z., & Schmidt, E.A. (2018). ICP and Antihypertensive Drugs. *Acta Neurochirurgica, Supplementum*, 126, 163–165. https://doi.org/10.1007/978-3-319-65798-1_34
- Silva, E.A.P., Carvalho, J.S., dos Santos, D.M., Oliveira, A.M.S., de Souza Araújo, A.A., Serafini, M.R., Oliveira Santos, L.A.B., Batista, M.V. d. A., Viana Santos, M.R., Siqueira Quintans, J. de S., Quintans-Júnior, L.J., & Barreto, A.S. (2021). Cardiovascular Effects of Farnesol and Its β -cyclodextrin Complex In Normotensive and Hypertensive Rats. *European Journal of Pharmacology*, 901, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174060>
- Stannus, O., Jones, G., Cicuttini, F., Parameswaran, V., Quinn, S., Burgess, J., & Ding, C. (2010). Circulating Levels of IL-6 and TNF- α Are Associated With Knee Radiographic

- Osteoarthritis and Knee Cartilage Loss In Older Adults. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18(11), 1441–1447. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2010.08.016>
- Takase, H., Sugiura, T., Ohte, N., & Dohi, Y. (2015). Urinary Albumin as a Marker of Future Blood Pressure and Hypertension in the General Population. *Medicine (United States)*, 94(6), 1–7. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000511>
- Tan, R., Li, J., Peng, X., Zhu, L., Cai, L., Wang, T., Su, Y., Irani, K., & Hu, Q. (2013). GAPDH Is Critical For Superior Efficacy of Female Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells On Pulmonary Hypertension. *Cardiovascular Research*, 100(1), 19–27. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvt165>
- Ventura, H.O., & Lavie, C.J. (2019). Editorial: Epidemiology and Managing Aspects of Hypertension. *Current Opinion in Cardiology*, 34(4), 329–330. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000631>
- Wenzel, U.O., Bode, M., Köhl, J., & Ehmke, H. (2017). A Pathogenic Role of Complement In Arterial Hypertension and Hypertensive End Organ Damage. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 312(3), 349–354. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00759.2016>
- Widyawati, T., Yusoff, N.A., Bello, I., Asmawi, M.Z., & Ahmad, M. (2022). Bioactivity-Guided Fractionation and Identification of Antidiabetic Compound of *Syzygium polyanthum* (Wight.)'s Leaf Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Model. *Molecules*, 27(20), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules27206814>



Physical stability and antibacterial effectiveness of erythromycin pulveres against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria

Stabilitas fisik dan efektivitas antibakteri pada puyer eritromisin terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Mutiara Herawati^{1*}, Oktavia Indrati², Fitra Romadonsyah², Tri Esti Purbaningtias³, Sekti Kartika Dini⁴, Yusi Rahmadani², Wahidatun Mardhatillah²

¹ Program Studi Profesi Apoteker, Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

² Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

³ Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

⁴ Jurusan Statistika, FMIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

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

Abstract

Background: Pediatric patients frequently receive prescriptions for erythromycin due to its availability in chewable tablet form. Some conditions lead to the powdering of chewable tablets to enhance patient acceptability. Modifying the dosage form of chewable tablets into powder can change the drug's surface, affecting its physical stability and effectiveness against bacteria.

Objective: This study aims to determine the physical stability of divided powder and the effectiveness of erythromycin pulveres against *E. coli* and *S. aureus* on the 1st to 14th days.

Method: For this study, we prepared up to 200 mg of erythromycin powder, typically administering it to pneumonia patients at a dose of 50 mg/kgBW/day. We will evaluate pulveres physical stability through organoleptic and humidity tests. Next, the powder's effectiveness was evaluated using the disk diffusion method (Kirby Bauer) with an erythromycin powder inhibition zone diameter of 25.65 µg containing 15 µg of erythromycin against *E. coli* and *S. aureus* bacteria.

Results: After day 9, the organoleptic test results showed a slight hardening; however, the moisture balance test results showed the change in humidity percentage was still in the stable range (1.24-2.12%). The inhibition zone (DIZ) of erythromycin powder against *S. aureus* was 91.7-97.40% bigger than the positive control. The DIZ against *E. coli* was 44.6-88.70% bigger than the positive control.

Conclusion: Erythromycin powder was stable for 14 days and is effective against *S. aureus* bacteria.

Keywords: Erythromycin, divided powder, *S. aureus*, *E. coli*

Intisari

Latar belakang: Eritromisin sering diresepkan untuk pasien pediatrik karena tersedia dalam bentuk tablet kunyah. Pada beberapa kondisi, tablet kunyah dibuat puyer untuk meningkatkan kenyamanan pasien dalam mengonsumsi obat. Perubahan bentuk sediaan tablet kunyah menjadi puyer dapat memperluas permukaan obat sehingga berisiko mempengaruhi stabilitas fisik sediaan dan efektivitasnya terhadap suatu bakteri.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas fisik puyer dan efektivitas puyer eritromisin terhadap *E. coli* dan *S. aureus* pada hari ke-1 sampai ke-14.

Metode: pengujian ini dilakukan dengan membuat puyer eritromisin dalam dosis 200 mg yang biasa diberikan untuk pasien pneumonia dengan dosis 50 mg/kgBB/hari. Puyer akan diuji stabilitas fisiknya melalui uji organoleptis dan kelembaban. Selanjutnya puyer diuji efektivitasnya menggunakan metode difusi cakram (Kirby Bauer) dengan mengukur diameter zona hambat puyer eritromisin 25,65 µg yang mengandung eritromisin 15 µg terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Hasil: Hasil uji organoleptis menunjukkan adanya sedikit pengerasan setelah hari ke 9 namun hasil uji moisture balance menunjukkan perubahan persentase kelembaban masih pada rentang stabil (1,24-2,12%). Daya hambat puyer eritromisin terhadap *S. aureus* sebesar 91,7-97,40% dibandingkan kontrol positif, sementara itu, daya hambat terhadap *E. coli* berada pada rentang 44,6-88,70.

Kesimpulan: Puyer eritromisin stabil selama 14 hari dan efektif terhadap bakteri *S. Aureus*.

Kata kunci: Eritromisin, puyer, *S. aureus*, *E. coli*

1. Pendahuluan

Pada umumnya infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen yang masuk ke jaringan tubuh dan mengalami perbanyakan (Purssell & Gould, 2023). Berdasarkan hasil Laporan Nasional Riskesdas Tahun 2018 menyebutkan bahwa prevalensi penyakit infeksi di Indonesia berupa Infeksi Saluran Pernapasan Atas (ISPA) sebesar 4,4%, pneumonia sebesar 2%, tuberkulosis paru sebesar 0,42%, hepatitis sebesar 0,39%, diare sebesar 6,8%, dan malaria sebesar 0,37% (Riskesdas, 2019). Salah satu terapi yang dapat diberikan pada kasus infeksi yaitu antibiotik atau suatu senyawa obat yang dapat membunuh bakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis dinding sel, sintesis protein sel bakteri, dan sintesis asam nukleat pada bakteri (Kapoor *et al.*, 2017). Eritromisin termasuk antibiotik golongan makrolida dengan mekanisme menghambat sintesis protein sel bakteri yang digunakan secara luas untuk menghambat bakteri gram positif dan negatif (Katzung & Anderah, 2021). *Staphylococcus spp.* sensitif terhadap eritromisin pada MIC 0,5 - 1 µg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 23 mm (CLSI, 2020).

Eritromisin dapat digunakan untuk penatalaksanaan terapi pada ISPA dan pneumonia (Schwinghammer & DiPiro, 2021). Eritromisin tersedia dalam berbagai sediaan salah satunya tablet kunyah yang terdiri dari bahan aktif dan eksipien yang dikempa langsung kemudian dikonsumsi dengan cara dikunyah sebelum ditelan. Eritromisin bersifat sedikit higroskopis dan terasa pahit sehingga tablet kunyah dibuat dengan tambahan pemanis untuk menutupi rasa obat (Renu *et al.*, 2015). Namun beberapa pasien seperti pediatrik, geriatrik, dan beberapa pasien dewasa memerlukan penyesuaian dosis sehingga perlu diberikan dalam bentuk sediaan puyer. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa peresapan puyer pada anak dapat meningkatkan daya terima obat sehingga dapat memaksimalkan terapi (Widyastiwi *et al.*, 2017).

Sediaan puyer dibuat dari sediaan tablet yang digerus menggunakan mortar dan stamper menjadi ukuran partikel yang lebih kecil. Hal ini menyebabkan luas permukaan sediaan menjadi lebih besar dan rentan terkena kontaminasi atau partikel lain sehingga dapat mempengaruhi kestabilan sediaan puyer (Bestari *et al.*, 2017). Selain itu, penyimpanan juga dapat mempengaruhi keamanan, efikasi, maupun kestabilan dari zat aktif suatu obat. Eritromisin bersifat sedikit higroskopis dan seharusnya disimpan di wadah tertutup dan dijauhkan dari cahaya matahari langsung dengan suhu dibawah 30°C (Kemenkes RI, 2020). Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk menguji stabilitas fisik dan efektivitas atau sensitivitas antibakteri puyer eritromisin yang diujikan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* pada hari ke-1, ke-4, ke-7, ke-10, dan ke-14.

2. Metode

2.1 Alat dan bahan

2.1.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu mortar, stamper, alat sealer, cawan petri, spreader, gelas beker, erlenmeyer, *microwave*, tabung reaksi, ose, mikropipet 5-50 μL , mikropipet 100-1000 μL (DragonLab), bunsen, pinset, neraca analitik, inkubator (Memmert), ultrasonik, vortex, spektrofotometer UV/Vis *double beam*, autoklaf, alat destruksi, bunsen, *scan 500*, kain lap, dan LAF (Laminar Air Flow).

2.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu tablet kunyah Erysanbe berisi eritromisin 200 mg (PT. Sanbe Farma), nutrient agar, nutrient broth, standar McFarland, larutan NaCl 0,9%, WFI, akuades, kertas cakram kosong, kertas cakram antibiotik, *blue tip*, *yellow tip*, isolat bakteri *S. aureus* ATCC 6598 dan *E. coli* ATCC 35218, kertas puyer, plastik klip, alkohol 70%, spiritus, aluminium foil, kertas sampul coklat, dan kapas.

2.2 Metode

2.2.1 Pembuatan puyer

Disiapkan tablet kunyah eritromisin 200 mg sebanyak 57 tablet, kemudian digerus menggunakan mortir dan stamper. Puyer dibagi kedalam 57 bagian dengan bobot rata-rata sampel puyer 684 mg. Setelah itu, puyer dimasukkan ke dalam kertas puyer kemudian dikemas dan dimasukkan ke dalam plastik klip. Obat disimpan dalam kotak obat yang tertutup rapat, pada suhu $<30^{\circ}\text{C}$ di tempat yang kering dan dijauhkan dari cahaya matahari langsung.

2.2.2 Uji stabilitas fisik puyer

Pengujian ini dilakukan dengan pengamatan secara fisik melalui perubahan warna, bau, wujud, dan kelembaban puyer. Pada pengujian ini digunakan 3 replikasi pada hari ke-1 hingga hari ke-14. Uji kelembaban puyer dilakukan dengan menggunakan alat *moisture analyzer* dan dicatat hasilnya.

2.2.3 Uji efektivitas puyer dan analisis hasil

a) Sterilisasi

Semua alat dicuci dipastikan sterilitasnya menggunakan oven pada suhu 161°C selama 15 menit. *Blue tip* dan *yellow tip* disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 120°C selama 2 jam,

sedangkan jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung hingga memijar menggunakan api bunsen setiap kali hendak digunakan.

b) Pembuatan media cair *nutrient broth*

Media dibuat dengan melarutkan 0,52 g NB dengan 40 mL akuades kemudian dipanaskan hingga terlarut sempurna dan dimasukkan ke 10 tabung reaksi masing-masing 3 mL. Dilakukan sterilisasi media menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama \pm 15 menit

c) Inokulasi bakteri ke NB

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diinokulasikan dalam media NB secara aseptis lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam. Setelah di inkubasi, dilihat pertumbuhan bakteri pada media dan hingga keruh.

d) Pengenceran bakteri sesuai standar McFarland

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebanyak 1 mL diencerkan menggunakan NaCl steril sebanyak 10 mL. Suspensi disamakan kekeruhannya hingga setara dengan standar McFarland 0,5. Pengukuran absorbansi suspensi bakteri menggunakan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 625 nm dengan rentang 0,08 – 0,10 sehingga konsentrasi bakteri setara dengan $1,5 \times 10$ CFU/mL.

e) Pembuatan media *nutrient agar* (NA)

Media NA 3,64 gram dan 130 mL akuades dicampurkan dan dipanaskan hingga terlarut sempurna. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm, dan suhu 121°C selama \pm 15 menit dan dibiarkan mengeras.

f) Penanaman bakteri pada media NA

Suspensi bakteri sebanyak 100 μ L setara dengan $1,5 \times 10$ CFU/mL ditanamkan kedalam cawan petri yang berisi NA. Setelah itu, suspensi bakteri diratakan lalu diinkubasi dengan posisi terbalik di BSC selama 1 jam hingga mengering.

g) Pembuatan suspensi antibiotik

Puyer eritromisin sebanyak 25,65 mg dan WFI sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi berpenutup lalu dihomogenkan menggunakan vortex dan ultrasonik. Setelah itu, suspensi eritromisin dan WFI dipipet masing-masing sebanyak 20 μ L dimasukkan ke dalam cakram kosong lalu dikeringkan di BSC selama 30 menit untuk digunakan sebagai sampel dan blanko. Sampel puyer eritromisin yang dipipet setara dengan 15 μ g/disk.

h) Uji efektivitas eritromisin secara *in vitro*

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode *disk diffusion* (Kirby Bauer). Pada pengujian ini digunakan cakram yang berisi sampel antibiotik eritromisin, kontrol positif berupa cakram eritromisin 15 µg/disk, dan kontrol negatif berupa cakram berisi WFI. Cakram antibiotik yang berisi suspensi eritromisin, kontrol positif, dan kontrol negatif diletakkan diatas NA yang mengandung bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, diamati dan diukur zona hambat yang diperoleh dari setiap cakram antibiotik ditandai dengan zona transparan di sekitarnya.

2.3.4 Analisis hasil

a) Interpretasi hasil uji stabilitas fisik puyer antibiotik

- 1) Interpretasi atas hasil organoleptis: puyer eritromisin dikategorikan stabil secara fisik jika tidak ada perubahan warna, bau, dan tekstur.
- 2) Interpretasi atas uji kelembaban: puyer dikategorikan stabil jika persen kelembaban tidak mengalami perubahan lebih dari 5%.
- 3) Kesimpulan atas hasil stabilitas fisik: puyer dikategorikan tidak stabil jika memenuhi kedua parameter organoleptis dan uji kelembaban.

b). Interpretasi hasil uji efektivitas antibiotik eritromisin

Eritromisin dikategorikan efektif atau sensitif terhadap bakteri jika persen daya hambat terhadap kontrol positif >80%

3. Hasil dan pembahasan

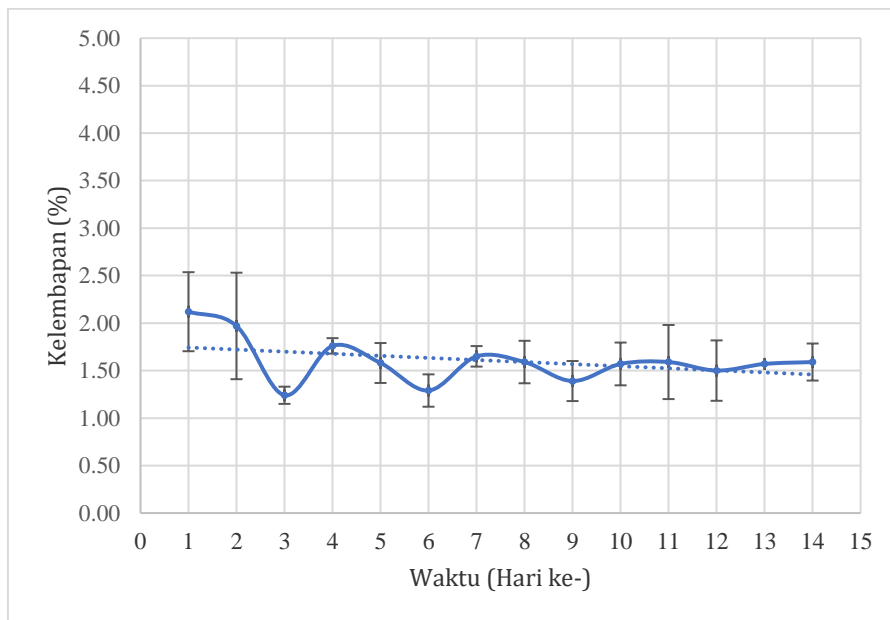
3.1 Uji stabilitas fisik puyer eritromisin

Uji Stabilitas fisik puyer dilakukan dengan uji organoleptis dan kelembaban. Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati perubahan warna melalui indra penglihat, bau melalui indra pencium, dan tekstur melalui indra peraba. Uji kelembaban puyer dilakukan dengan mengukur kadar air sediaan menggunakan alat moisture analyzer.

Berdasarkan uji stabilitas fisik, puyer masih stabil selama 14 hari. Puyer bersifat stabil secara fisik jika diamati dari warna, bau, dan teksturnya selama 9 hari. Bentuk fisik puyer tidak mengalami perubahan mulai hari ke-1 hingga ke-9, namun sejak hari ke-10 tekstur puyer berubah menjadi butiran yang lebih kasar. Perubahan tekstur dapat disebabkan oleh obat yang bersifat higroskopis sehingga mudah mengalami pengkristalan saat disimpan pada waktu tertentu. Selain itu, bahan tambahan gula dalam penyusun tablet kunyah akan meningkatkan higroskopisitas sediaan puyer

(Haryanto, 2017). Namun demikian, berdasarkan hasil uji kelembaban, persentase perubahan kelembaban masih masuk rentang $<1\%$, oleh karena itu, masih dikategorikan stabil.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi kelembaban adalah keadaan lingkungan sekitar tempat penyimpanan. Hal yang mempengaruhi stabilitas puyer ini salah satunya yaitu lokasi penyimpanan pada suhu ruang yang tidak dikendalikan. Suhu dan kelembaban penyimpanan puyer berubah-ubah sesuai kondisi cuaca dan lingkungan sehingga mempengaruhi kelembaban sampel puyer. Suhu dan lama waktu penyimpanan dapat mempengaruhi nilai kadar air, tingkat penggumpalan, dan warna serbuk (Setyani *et al.*, 2023).



Gambar 1. Grafik kelembaban puyer eritromisin

Hasil uji kelembaban menunjukkan puyer stabil selama 14 hari. Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa puyer yang disimpan pada hari ke-1 hingga ke-14 memiliki kelembaban 1,24 – 2,12 %. Apabila diamati dari grafik dapat diketahui bahwa kelembaban puyer mengalami perubahan per hari sesuai dengan kondisi penyimpanannya. Apabila dibandingkan data hari ke-1 dengan hari ke-14 menunjukkan kelembaban yang relatif stabil dengan penurunan sebesar 0,53%. Salah satu hal yang dapat mempengaruhi kestabilan fisik sediaan berupa wadah penyimpanan yang sesuai. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan (2013) mengenai penyimpanan obat dalam wadah yang tertutup rapat dapat memperlambat kerusakan fisik puyer serta melindungi dari panas dan cahaya. Puyer disimpan di tempat yang kering, terlindung dari cahaya dan kelembaban untuk menjaga kestabilannya (Kurniawan, 2013). Selain itu, bahan tambahan juga dapat mempengaruhi stabilitas. Tablet kunyah umumnya menggunakan sorbitol, sukrosa dan manitol. Bahan pengisi

manitol paling baik digunakan karena bersifat tidak higroskopis, kompresibilitas baik, dan rasanya manis (Latifiana *et al.*, 2021).

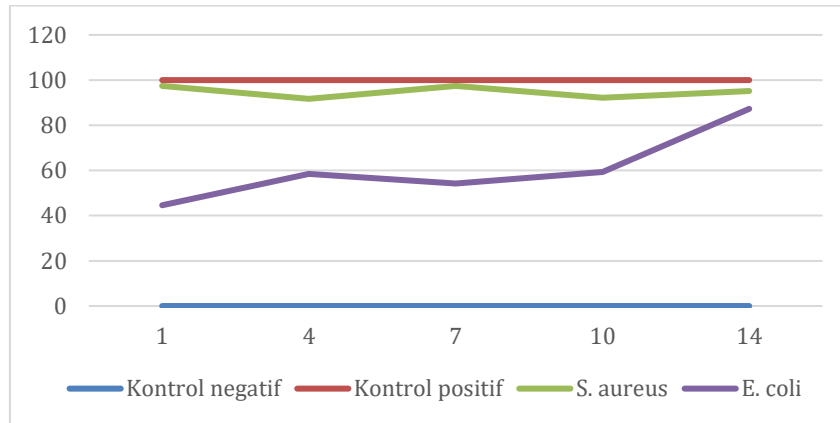
3.2 Uji efektivitas puyer eritromisin terhadap bakteri

Berdasarkan hasil pengujian menunjukkan bahwa puyer eritromisin masih efektif terhadap *S. Aureus* selama 14 hari penyimpanan, namun tidak efektif terhadap *E.Coli*. Sebagaimana Tabel 1 menunjukkan diameter zona hambat *S. Aureus* >80%, sementara pada *E. Coli* ≤80%. Zona hambat eritromisin terhadap *E. Coli* ≤80% dapat dipengaruhi oleh berkurangnya sensitivitas antibiotik. Meskipun demikian, beberapa faktor lain dapat mempengaruhi, diantaranya yaitu proses pembuatan suspensi eritromisin yang kurang tepat baik penimbangan bahan atau jumlah pelarut yang kurang sesuai. Selain itu juga dapat disebabkan oleh pemipetan yang kurang sesuai sehingga jumlah sampel eritromisin kurang dari 15 µg/disk.

Tabel 1. Zona hambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli* terhadap puyer eritromisin

Waktu (Hari ke-)	Rata-rata diameter zona hambat <i>S. aureus</i> (mm) (n=3)		%daya hambat <i>S. aureus</i>	Rata-rata diameter zona hambat <i>E. coli</i> (mm) (n=3)		%daya hambat <i>E. coli</i>
	Sampel ± SD	Kontrol positif ± SD		Sampel ± SD	Kontrol positif ± SD	
1	27,40 ± 0,87	28,13 ± 0,76	97,40	5,50 ± 4,77	12,33 ± 0,29	44,60
4	24,33 ± 0,96	26,53 ± 1,30	91,70	6,13 ± 5,32	10,47 ± 1,21	58,54
7	26,57 ± 0,96	27,27 ± 1,05	97,43	6,07 ± 5,27	11,20 ± 0,66	54,19
10	25,80 ± 0,72	27,97 ± 1,07	92,24	7,57 ± 6,56	12,77 ± 1,16	59,28
14	26,63 ± 0,60	27,97 ± 0,76	95,20	10,5 ± 0,95	12,03 ± 0,95	87,28

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan diameter zona hambat *S. Aureus* terhadap eritromisin cenderung stabil pada rentang 91-97% dibandingkan kontrol positif. Meskipun diameter zona hambat *S. aureus* terhadap sampel pada hari ke-1 hingga ke-4 mengalami penurunan sebesar 3,07 mm, namun masih dalam rentang efektif. Sementara itu, pada hari ke-4 hingga hari ke-7, diameter zona hambat mengalami peningkatan sebesar 2,23 mm, kemudian mengalami penurunan pada hari ke 10, dan peningkatan kembali pada hari ke 14.



Gambar 2. Persentase daya hambat puyer eritromisin terhadap S Aureus dan E Coli dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa efektivitas eritromisin terhadap *S. aureus* cenderung tinggi dibuktikan dengan diameter zona hambat bakteri yang besar mendekati kontrol positif (Gambar 2). Oleh karena itu, eritromisin tepat direkomendasikan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* dan strain *Staphylococcus* yang lain. Eritromisin digunakan sebagai salah satu terapi pneumonia di Rumah Sakit (Wahyuni *et al.*, 2015). Efektivitas puyer eritromisin terhadap bakteri *S. aureus* masih baik walau disimpan selama 14 hari.

Sementara itu, rata-rata diameter zona hambat eritromisin terhadap *E. Coli* cukup rendah hanya sekitar 44-87% dibandingkan kontrol positif (Gambar 2). Hal ini menunjukkan eritromisin kurang efektif untuk pengatasan infeksi *E. Coli*. Hasil ini menunjukkan eritromisin tidak direkomendasikan untuk penyakit infeksi *E. Coli* seperti diare dan infeksi pencernaan lainnya.

Peresepan puyer eritromisin di fasilitas kesehatan masih aman diberikan kepada pasien jika ditinjau dari kestabilan fisik puyer dan efektivitasnya terhadap bakteri. Hal ini dibuktikan dengan pembuatan puyer eritromisin yang disimpan selama 14 hari tidak mengalami perubahan fisik dan kelembaban, serta efektif terhadap *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian puyer eritromisin dapat diaplikasikan pada pasien dengan infeksi bakteri *Staphylococcus*. Pertimbangan penting yang perlu diperhatikan adalah penyiapan puyer yang harus mengikuti prosedur *compounding* yang baik serta kondisi penyimpanan yang sesuai. Suhu, kelembaban, dan wadah penyimpanan juga dapat mempengaruhi stabilitas fisik dan efektivitas puyer terhadap suatu bakteri.

4. Kesimpulan

Berdasarkan uji stabilitas fisik yang diamati dari uji organoleptis dan kelembaban menunjukkan puyer eritromisin stabil selama 14 hari. Adapun hasil uji daya hambat menunjukkan puyer eritromisin efektif terhadap *S. Aureus* selama 14 hari, namun tidak efektif terhadap *E. Coli*.

Ucapan terimakasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Pimpinan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan dana hibah kolaborasi sehingga memungkinkan penelitian dapat diselesaikan.

Daftar pustaka

- Bestari, A.N., Sulaiman, T.. S., & Purnamasari, D.A. (2017). Pengaruh Pengecilan Ukuran Partikel pada Kasus Pembuatan Pulveres dari Tablet Terhadap Kecepatan dan Profil Disolusi Serta Stabilitasnya. *Majalah Farmasetik*, 13(1), 45–55.
- CLSI. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 30th ed*, CLSI supplement M100. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Haryanto, B. (2017). Pengaruh Penambahan Gula Terhadap Karakteristik Bubuk Instan Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Dengan Metode Kristalisasi. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 14(3), 163–170. <https://doi.org/10.21082/jpasca.v14n3.2017.163-170>
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and Resistance Mechanisms of Antibiotics: A Guide for Clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33(1), 300–305. <https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP>
- Katzung, B.G. & Anderah, T.W. (2021). *Basic & Clinical Pharmacology, 15e*. New York: McGraw-Hill.
- Kemenkes RI. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kurniawan, B.R. (2013). Stabilitas Resep Racikan Yang Berpotensi Mengalami Inkompatibilitas Farmasetika Yang Disimpan Pada Wadah Tertutup Baik. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(2), 1–16.
- Latifiana, U., Budi Legowo, D., Fitriany, E., Priyoherianto, A., & Huri, M.N.A. (2021). Uji Mutu Fisik Metoklopramid HCl Tablet Chewable dengan Variasi Jenis Pengisi sebagai Diluent menggunakan Metode Granulasi Basah. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(2), 76–85. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v1i2.10638>
- Purssell, E. & Gould, D. (2023). *Infection Prevention and Control in Healthcare Settings*. Hoboken: Wiley-Blackwell, John Wiley & Sons, Ltd..
- Renu, Dahiya, J., Jalwal, P., & Singh, B. (2015). Chewable Tablets: A Comprehensive Review. *The Pharma Innovation Journal*, 4(5), 100–105.
- Riskesdas, 2019. *Laporan Nasional RISKESDAS 2018*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Schwinghammer, T.L. & DiPiro, P.J.T, (2021). *Pharmacotherapy Handbook (Eleventh Edition)*. New York: Mc Graw Hill.
- Setyani, Z.C., Widyaningsih, T.D., & Ali, D.Y. (2023). Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Susu Bubuk Edamame. *Jurnal Teknologi Pangan*, 16(2), 18–30. <https://doi.org/10.33005/jtp.v16i2.3472>

- Wahyuni, F.A., Fitriani, V.Y., & Masruhim, M.A. (2015). Pola Penggunaan Antibiotik Penyakit Pneumonia Di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie. Dalam: *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. Samarinda, Kalimantan Timur, hal. 95–100. <https://doi.org/https://doi.org/10.25026/mpc.v2i1.46>
- Widyastiwi, W., Sugihartina, G., & Pamudjo, I. (2017). Acceptability of Anti-Tuberculosis Compounded Medicines at a Hospital in Bandung. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 6(2), 99–106. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2017.6.2.99>



Antidepressant use in pregnancy and the risk of neonatal outcomes: a scoping review

Yosi Febrianti^{1,2}

¹Department of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

²Doctoral Program of Pharmacy Faculty, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Corresponding author: yosi.febrianti@uui.ac.id

Abstract

Background: Depression is a frequently encountered issue during pregnancy and postpartum. Both depression itself and the use of antidepressant medications can have implications for the infant's well-being. Studies have linked maternal depression to adverse outcomes like preterm birth, low birth weight, fetal growth restriction, and potential cognitive and emotional challenges for the child after birth. On the other hand, exposure to antidepressants during pregnancy has been associated with an increased risk of preterm birth, a decrease in birth weight, and congenital malformations.

Objectives: In light of these considerations, a scoping review was conducted to examine recent research findings concerning antidepressant use during pregnancy.

Methods: This study was a scoping review. Pubmed and Scopus databases were used to search for all relevant studies published from 2019 until 2023. Studies were excluded if they were case reports, narrative reviews, systematic reviews, or meta-analyses. Finally, all eligible articles were assessed for their outcomes.

Results: The use of SSRIs and duloxetine antidepressants in perinatal women was linked to preterm birth and smaller gestational sizes compared to controls, according to three cohort studies. Congenital malformation was also associated with duloxetine, mirtazapine, and atomoxetine use during pregnancy (3 cohort studies).

Conclusions: Recognizing the potential risks to the infant and the risk of leaving maternal depression untreated is crucial when making the decision to use antidepressants during pregnancy. This underscores the importance of a thoughtful and informed approach to managing depression in pregnant women.

Keywords: Antidepressant, drug safety, perinatal depression, pregnancy

1. Introduction

Antenatal depression is classified as a Major Depressive episode in the fifth edition of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV), which is largely impacted by a combination of environmental and genetic variables (Vahia, 2013). The period of childbearing for women represents the highest vulnerability to developing depression, with antenatal depression being a significantly understudied and undertreated condition (Vigod *et al.*, 2016). The illness is thought to be exacerbated by the fluctuating amounts of peptide and steroid hormones that occur during pregnancy (Goodman, 2007). The prevalence of antenatal depression varies between 7 and 20% in each trimester of pregnancy (Underwood *et al.*, 2016; Woolhouse *et al.*, 2014) and longitudinal studies indicate that symptoms of antenatal depression tend to persist or recur in subsequent pregnancies (Kingston *et al.*, 2018).

Neglected mental health conditions during and following pregnancy can have negative consequences for both the mother and the infant. In the situation of prenatal depression, the probability of having concerns such as low birth weight, early birth, fetal growth restriction, and pregnancy complications is increased (Accortt *et al.*, 2015; Byrn & Penckofer, 2013; Hoirisch-Clapauch *et al.*, 2015). Antidepressants have been shown to pass the placenta, be present in amniotic fluid, and enter breast milk in low quantities. Prenatal exposure from depression medication in pregnancy must thus address the teratogenic effects on the baby's growth and development, birth abnormalities, pregnancy problems, perinatal morbidity and mortality, and long-term sequelae. Medication exposure during nursing was shown to be lower than SSRI transplacental exposure during pregnancy. SSRI exposure may result in neonatal problems that mirror withdrawal (Zeszutek, 2021). Nevertheless, a significant number of women do not receive adequate treatment, often because healthcare providers are cautious about prescribing medications to pregnant individuals. Since these studies were published, further research has been undertaken on antidepressant exposure during pregnancy. Thus, the purpose of this study was to perform a scoping review that included the most recent studies on prenatal depression and the risk of neonatal outcomes.

2. Methods

This research constitutes a literature review employing a scoping review design. The process of searching for relevant literature involved utilizing electronic databases, specifically Pubmed and Scopus. The searches conducted on these databases incorporated Medical Subject Headings (MeSH) search terms, which encompassed "Antidepressant," "Antidepressive agent," "Pregnancy," and "Safety." To streamline the article selection process, a Boolean Logic approach was employed within PubMed, resulting in the following search query: ((("Antidepressant"[Mesh]) OR "Antidepressive agent"[Mesh]) AND "Pregnancy"[Mesh]) AND "Safety"))).

Articles meeting specific criteria were considered for inclusion. These criteria included the following: the article originated from either the Pubmed or Scopus electronic database within five years of publication, available in full-text format and accessible, the subject of the article pertains to a pregnant woman experiencing depression, and the article explores the use

of antidepressants during pregnancy. Exclusion criteria include articles in the form of case reports, narrative reviews, systematic reviews, or meta-analyses.

3. Results and discussion

The literature search conducted in both Pubmed and Scopus databases yielded a total of 22 articles that merited further examination. Out of these, 6 articles were ultimately chosen as they were pertinent to the discussion regarding the safety of employing antidepressants to manage depression in pregnant women. However, 16 other articles were excluded from consideration due to their nature as case reports, in vivo studies, incomplete articles, or the fact that they did not specifically address the use of antidepressants for depression. A visual representation of the literature search process can be found in Figure 1, while the detailed results of the article search are presented in Table 1.

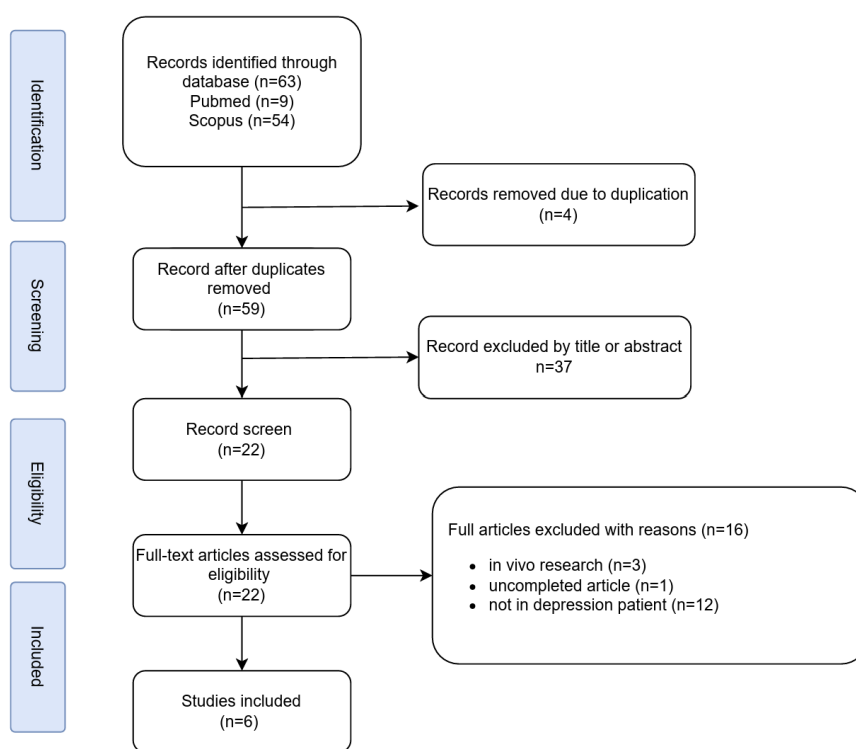


Figure 1. Flow chart for study selection

Table 1. Finding of the studies that fulfilled the inclusion criteria

Article	First author, year	Study design	Aims of study	Outcomes
1	Sujan <i>et al.</i> (2021)	Cohort study, (n=668.914)	To examine the impact of concurrent prescriptions for opioid analgesics and selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) during pregnancy on two specific birth outcomes.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ The risk of preterm birth was higher among women who had a prescription for opioid analgesics only (5.9%; risk ratio [RR] 1.27, 95% confidence interval [CI] 1.22, 1.33), selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) only (6.2%; RR 1.34, 95% CI 1.27, 1.42), both medications (7.8%; RR 1.70, 95% CI 1.47, 1.96), compared to women who were not exposed to these medications (4.6%). ▪ In the case of small for gestational age, the risk remained approximately 2% across all groups, and there was no significant interaction observed between the medications.
2	Ankarfe ldt <i>et al.</i> (2021)	Cohort study, (n=2.132.163)	To explore the potential link between exposure to duloxetine during pregnancy and the likelihood of the offspring being born either small for gestational age or prematurely.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ In this study, a total of 2,083,467 pregnancies were analyzed. Among them, 1589 pregnancies had exposure to duloxetine during early pregnancy, and 450 pregnancies had exposure to duloxetine during late pregnancy. ▪ When considering the risk of small for gestational age, there was no significant increase in risk associated with duloxetine exposure when compared to various comparison groups, with odds ratios of 0.64 (95% CI 0.44–0.95) and 1.48 (95% CI 0.85–2.57). ▪ However, concerning preterm birth, duloxetine-exposed pregnancies exhibited an elevated risk when compared to pregnancies without duloxetine exposure, those exposed to selective serotonin reuptake inhibitors, and those who discontinued duloxetine in both early and late exposure groups. The odds ratios ranged from 1.17 to 2.04, with some not reaching statistical significance.

Table 1. Finding of the studies that fulfilled the inclusion criteria

Article	First author, year	Study design	Aims of study	Outcomes
				<ul style="list-style-type: none"> Notably, there was no apparent association observed when comparing duloxetine-exposed pregnancies with venlafaxine-exposed pregnancies, with odds ratios of 0.91 (95% CI 0.73–1.14) for early exposure and 1.26 (95% CI 0.86–1.86) for late exposure. It's worth noting that the majority of preterm births (79.2%) occurred between weeks 33 and 36 of gestation.
3	Heinonen <i>et al.</i> (2021)	A double-blind randomized controlled (n=16)	To investigate the variation in plasma concentrations of sertraline in pregnant women and its transfer to their infants.	<ul style="list-style-type: none"> The analysis included nine mothers and seven infants. The median dose-adjusted sertraline concentration during the second trimester was 0.15 (ng/mL) / (mg/day), while during the third trimester and at delivery, it was 0.19. One month postpartum, it reached 0.25, indicating a 67% relative difference between the second trimester and the postpartum period. Notably, there was a 10-fold interindividual variation among the participants. The infants' median concentrations were 33% and 25% of their mothers' levels, as measured in cord blood and infant plasma, respectively. Importantly, only mild and transient adverse effects were observed in the infants.
4	Ankarfeldt <i>et al.</i> (2023)	Cohort study, (n=2.132.163)	To assess the relationship between exposure to duloxetine during pregnancy and the likelihood of major and minor congenital malformations as well as the risk of stillbirths.	<ul style="list-style-type: none"> In both adjusted and propensity score-matched analyses, there was no observed increase in the risk of major malformations, minor malformations, or stillbirths across the comparison groups. Specifically, in the propensity score-matched analysis comparing duloxetine-exposed pregnancies with duloxetine-nonexposed pregnancies, the odds ratios (OR) were as follows: OR 0.98 (95% confidence interval [CI] 0.74 to 1.30, p = 0.909) for major

Table 1. Finding of the studies that fulfilled the inclusion criteria

Article	First author, year	Study design	Aims of study	Outcomes
				malformations; OR 1.09 (95% CI 0.82 to 1.45, p = 0.570) for minor malformations; and OR 1.18 (95% CI 0.43 to 3.19, p = 0.749) for stillbirths. These findings suggest that exposure to duloxetine during pregnancy did not appear to increase the risk of major or minor congenital malformations or the risk of stillbirths when compared to pregnancies without duloxetine exposure.
5	Bröms <i>et al.</i> (2023)	Cohort study, (n=990)	To determine the prevalence of major congenital malformations in general, with a particular focus on cardiac malformations and limb malformations, following exposure to atomoxetine during the first trimester of pregnancy.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ The pooled crude Prevalence Ratio (PR) for any major congenital malformation was 1.18 (95% CI, 0.88–1.60), and the adjusted PR was 0.99 (95% CI, 0.74–1.34). For cardiac malformations, the adjusted PR was 1.34 (95% CI, 0.86–2.09). Regarding limb malformations, the adjusted PR was 0.90 (95% CI, 0.38–2.16). ▪ In summary, there was no observed increase in the prevalence of major congenital malformations overall, and although there was some uncertainty due to sample size, there were no statistically significant elevated risk estimates for cardiac malformations or limb malformations following atomoxetine exposure in early pregnancy.
6	Ostenfeld <i>et al.</i> (2022)	Cohort study, (n=1.650.649)	To explore the potential connection between mirtazapine exposure during pregnancy and the likelihood of experiencing specific adverse pregnancy outcomes.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Among pregnancies exposed to mirtazapine, 3.5% of children were diagnosed with major congenital malformations, while 4.3% of unexposed pregnancies had such malformations. The odds ratio (OR) was 0.81 (95% CI 0.55–1.20), indicating no significant difference in risk. ▪ Spontaneous abortion occurred in 12.5% of pregnancies exposed to mirtazapine and 12.3% of

Table 1. Finding of the studies that fulfilled the inclusion criteria

Article	First author, year	Study design	Aims of study	Outcomes
				<p>unexposed pregnancies. The hazard ratio (HR) was 1.04 (95% CI 0.91–1.20), suggesting no substantial difference in the risk of spontaneous abortion.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ The analysis of stillbirth did not reveal an increased risk, with 0.3% of stillbirths among the exposed pregnancies and 0.4% among the unexposed pregnancies. The hazard ratio (HR) was 0.88 (95% CI 0.34–2.29), indicating no significant difference in stillbirth risk. ▪ Likewise, there was no observed increase in the risk of neonatal death, with 0.3% of cases among the exposed pregnancies and 0.6% among the unexposed pregnancies. The hazard ratio (HR) was 0.60 (95% CI 0.18–2.02), suggesting no significant difference in neonatal death risk. ▪ In summary, the study did not find a significant association between mirtazapine exposure during pregnancy and an elevated risk of major congenital malformations, spontaneous abortion, stillbirth, or neonatal death.

This scoping review has compiled and summarized the existing literature on the use of antidepressants during pregnancy, offering researchers and clinicians an overview of the current state of knowledge in this relatively emerging area of adherence research. Through this review, several clinical and practical shortcomings have been recognized, along with gaps in the existing research that warrant further investigation.

3.1 Perinatal depression

Perinatal depression can manifest during pregnancy (prenatally), in the year following childbirth (postpartum), or even in both periods. While it's common for new mothers to experience moments of weepiness and emotional fluctuations, often referred to as the "baby blues," which can affect up to 80% of them within a few days after giving birth, these symptoms typically resolve on their own and do not persist beyond about 10 days (Van Niel & Payne, 2020). Perinatal depression, on the other hand, is distinguished by its long duration (more than 14 days) and considerable influence on a woman's quality of life. Several factors increase the risk of experiencing peripartum depression, with the most influential risk factor for depression during pregnancy being a history of major depressive disorder (Räsänen *et al.*, 2014). Women who choose to discontinue their antidepressant medications during pregnancy face an increased risk of experiencing a relapse of depression. Depression during pregnancy has been linked to various complications, affecting both the prenatal and postpartum periods. Depression during pregnancy has been correlated with adverse outcomes such as preterm birth (Grigoriadis *et al.*, 2013; Szegda *et al.*, 2014), low birth weight, and fetal growth restriction (Ciesielski *et al.*, 2015).

3.2 General approach to the pregnant patient

The US Prevention Task Force Services (USPTF) and the American College of Obstetricians and Gynecologists advise healthcare providers to conduct depression screening in pregnant and postpartum patients at least once. This helps in ensuring a correct diagnosis and facilitates access to appropriate treatment and follow-up care (Siu *et al.*, 2016). For cases of mild to moderate depression, psychotherapy is recommended as the primary treatment. However, when dealing with moderate to severe depression or a previous history of depression that responded well to medication, antidepressant medication should be considered as the initial treatment option (Byatt *et al.*, 2013).

3.3 Antidepressants and pregnancy

3.3.1 Preterm birth and birth weight

Preterm birth, categorized as delivery before 37 weeks of gestation, has been linked to the use of antidepressants during the second and third trimesters of pregnancy (Huybrechts *et*

al., 2014). When examining the risk of preterm birth, an elevated risk was observed with early exposure to duloxetine in comparison to women who were not exposed to duloxetine. However, when compared to those exposed to SSRIs, venlafaxine, and women who discontinued duloxetine, there was no statistically significant increase in risk associated with duloxetine use. Importantly, it is unlikely that exposure to duloxetine during pregnancy increases the risk of having a baby born small for gestational age (Ankarfeldt *et al.*, 2023). More evidence from a systematic review and meta-analysis found is consistent with an increased risk of preterm birth in women taking antidepressants during the 2nd and 3rd trimesters (Huybrechts *et al.*, 2014). Another study showed that women who used antidepressants during pregnancy had a 20% (95% CI: 10–40%) increased prevalence of both PTB and LBW compared to those who never used antidepressants (Cantarutti *et al.*, 2016).

In preliminary, unadjusted assessments, women who were not exposed to either SSRIs or opioids had a preterm labor rate of 4.6%. In comparison, women prescribed both SSRIs and opioids had the highest risk of preterm labor at 9.4%, followed by women solely prescribed opioids at 6.3%, and then women solely prescribed SSRIs at 6.5%. Additionally, the findings implied that the prevalence of small-for-gestational-age infants did not seem to be influenced by exposure to either medication alone or by combined exposure to both medications (Sujan *et al.*, 2021).

3.3.2 Teratogenesis

Our findings indicate that the use of antidepressants during pregnancy can carry potential risks for infants. However, Regarding duloxetine, both adjusted and propensity score-matched analyses did not reveal any noticeable increase in the risk of major malformations, minor malformations, or stillbirths when comparing different groups (Ankarfeldt *et al.*, 2021). As for mirtazapine exposure during pregnancy, no associations were found with major congenital malformations, spontaneous abortion, stillbirth, or neonatal death (Ostenfeld *et al.*, 2022). It is important to note that in some other studies investigating mirtazapine exposure during pregnancy, different outcomes have been explored, and some have reported an elevated risk of poor neonatal adaptation syndrome (PNAS) resulting from withdrawal after late-pregnancy mirtazapine exposure (Smit *et al.*, 2016; Winterfeld *et al.*, 2015). However, it's important to recognize that PNAS is a rare condition, and the study in question may not have had the statistical power to thoroughly investigate this particular outcome. In summary, while

antidepressant use during pregnancy warrants careful consideration due to potential risks, the specific risk profile can vary depending on the medication and the outcomes under study. Healthcare providers should weigh the potential benefits and risks when making clinical decisions regarding antidepressant use in pregnant patients.

A multinational study, encompassing more than 4 million births across Nordic countries and the United States, did not find a significant connection between maternal use of atomoxetine and major congenital malformations overall. Although there was a slightly elevated relative risk estimate for cardiac malformations, it's important to note that this association was not estimated with precision (Bröms *et al.*, 2023). Indeed, Bérard *et al.* (2017) found that In a group of pregnant women with depression, antidepressants with effects on serotonin reuptake increased the incidence of various organ-specific abnormalities. Numerous thorough evaluations have found no identifiable pattern of significant abnormalities in women exposed to SSRIs during pregnancy, and SSRIs are not commonly categorized as teratogens (Furu *et al.*, 2015). However, it's important to approach these findings with caution, as these studies did not account for various factors such as antidepressant dosage, the severity of depression, duration of exposure, serum concentration levels of exposure, and the educational background of the mothers. These factors may all potentially influence the outcomes and need to be considered when interpreting the results.

The study involved a cohort of 16 pregnant women who were taking sertraline. The findings revealed that the median concentration of sertraline in the mothers' plasma at delivery (n=8) was 14.38 ng/mL, with a range of 3.64-24.17 ng/mL. In infants, the median concentration was 4.28 ng/mL in cord blood (n=5) and 4.59 ng/mL in infant plasma at 48 hours of age (n=5), with respective ranges of 1.22-6.12 ng/mL and 1.25-7.04 ng/mL. These results confirm that the concentration of sertraline is generally lower in infants compared to their mothers. The penetration ratio into cord blood (CB) and newborn plasma was used to calculate this (Heinonen *et al.*, 2021). However, further information from long-term follow-up studies is required to offer a more thorough knowledge of the hazards and safety associated with the use of antidepressants during pregnancy.

This review comes with certain limitations that warrant acknowledgment. While a substantial amount of data was collected, it is important to note that no quantitative synthesis of this data was conducted in the course of this review. This outcome aligns with the design of

a scoping study, which doesn't aim to address this specific aspect. Scoping studies are intended to offer a narrative and descriptive overview of the existing literature related to a topic, covering a broader spectrum of study designs when compared to systematic reviews, which typically focus on a narrowly defined research question.

4. Conclusion

Neglected maternal depression during pregnancy can lead to unfavorable consequences for both the mother and the baby. While most antidepressant medications are not typically categorized as major teratogens, it is crucial to remain informed about and educate patients on the considerations associated with using these medications during pregnancy. A comprehensive psychiatric history should be collected, and a personalized discussion should take place to evaluate the pros and cons of prenatal medication exposure versus the risks posed to both the mother and the child by untreated maternal depression. The goal should be to use the lowest effective dose necessary to achieve a stable mood, with the aim of avoiding unnecessary exposure to both the medication and the effects of maternal illness.

References

- Accortt, E.E., Cheadle, A.C.D., & Dunkel Schetter, C. (2015). Prenatal Depression and Adverse Birth Outcomes: An Updated Systematic Review. *Maternal and Child Health Journal*, 19(6), 1306-1337. <https://doi.org/10.1007/s10995-014-1637-2>
- Ankarfeldt, M.Z., Petersen, J., Andersen, J.T., Fernandes, M.F.S., Li, H., Motsko, S.P., Fast, T., & Jimenez-Solem, E. (2023). Duloxetine Exposure During Pregnancy and the Risk of Offspring Being Born Small for Gestational Age or Prematurely: A Nationwide Danish and Swedish Safety Study. *Drugs - Real World Outcomes*, 10(1), 69-81. <https://doi.org/10.1007/s40801-022-00334-2>
- Ankarfeldt, M.Z., Petersen, J., Andersen, J.T., Li, H., Motsko, S.P., Fast, T., Hede, S.M., & Jimenez-Solem, E. (2021). Exposure To Duloxetine During Pregnancy and Risk of Congenital Malformations and Stillbirth: A Nationwide Cohort Study in Denmark and Sweden. *PLoS Medicine*, 18(11), 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003851>
- Bérard, A., Zhao, J.P., & Sheehy, O. (2017). Antidepressant Use During Pregnancy and The Risk of Major Congenital Malformations In A Cohort of Depressed Pregnant Women: An Updated Analysis of The Quebec Pregnancy Cohort. *BMJ Open*, 7(1), 1-13. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-013372>
- Bröms, G., Hernandez-Diaz, S., Huybrechts, K.F., Bateman, B.T., Kristiansen, E.B., Einarsdóttir, K., Engeland, A., Furu, K., Gissler, M., Karlsson, P., Klungsøyr, K., Lahesmaa-Korpinen, A.M., Mogun, H., Nørgaard, M., Reutfors, J., Sørensen, H.T., Zoega, H., & Kieler, H. (2023). Atomoxetine in Early Pregnancy and the Prevalence of Major Congenital Malformations: A Multinational Study. *Journal of Clinical Psychiatry*, 84(1), 1-12.

- <https://doi.org/10.4088/JCP.22m14430>
- Byatt, N., Deligiannidis, K.M., & Freeman, M.P. (2013). Antidepressant Use in Pregnancy: A Critical Review Focused on Risks and Controversies. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 127(2), 94–114. <https://doi.org/10.1111/acps.12042>
- Byrn, M.A. & Penckofer, S. (2013). Antenatal Depression and Gestational Diabetes: A Review of Maternal and Fetal Outcomes. *Nursing for Women's Health*, 17(1), 22–33. <https://doi.org/10.1111/1751-486X.12003>
- Cantarutti, A., Merlino, L., Monzani, E., Giaquinto, C., & Corrao, G. (2016). Is the Risk of Preterm Birth and Low Birth Weight Affected by the Use of Antidepressant Agents during Pregnancy? A Population-Based Investigation. *PLoS One*, 11(12), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168115>
- Ciesielski, T.H., Marsit, C.J., & Williams, S.M. (2015). Maternal Psychiatric Disease and Epigenetic Evidence Suggest A Common Biology For Poor Fetal Growth. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 15(192), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12884-015-0627-8>
- Furu, K., Kieler, H., Haglund, B., Engeland, A., Selmer, R., Stephansson, O., Valdimarsdottir, U.A., Zoega, H., Artama, M., Gissler, M., Malm, H., & Nørgaard, M. (2015). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Venlafaxine In Early Pregnancy and Risk of Birth Defects: Population Based Cohort Study and Sibling Design. *BMJ (Online)*, 350, 1–9. <https://doi.org/10.1136/bmj.h1798>
- Goodman, S.H. (2007). *Depression in Mothers*, in: Annual Review of Clinical Psychology. pp. 107–135. <https://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.3.022806.091401>
- Grigoriadis, S., VonderPorten, E.H., Mamisashvili, L., Tomlinson, G., Dennis, C.-L., Koren, G., Steiner, M., Mousmanis, P., Cheung, A., Radford, K., Martinovic, J., & Ross, L.E. (2013). The Impact of Maternal Depression During Pregnancy on Perinatal Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 74(4), 321–341.
- Heinonen, E., Blennow, M., Blomdahl-Wetterholm, M., Hovstadius, M., Nasiell, J., Pohanka, A., Gustafsson, L.L., & Wide, K. (2021). Sertraline Concentrations In Pregnant Women Are Steady and The Drug Transfer To Their Infants Is Low. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 77(9), 1323–1331. <https://doi.org/10.1007/s00228-021-03122-z>
- Hoirisch-Clapauch, S., Brenner, B., & Nardi, A.E. (2015). Adverse Obstetric and Neonatal Outcomes In Women With Mental Disorders. *Thrombosis Research*, 135(Suppl.1), 560–563. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(15\)50446-5](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(15)50446-5)
- Huybrechts, K.F., Sanghani, R.S., Avorn, J., & Urato, A.C. (2014). Preterm Birth and Antidepressant Medication Use During Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, 9(3), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092778>
- Kingston, D., Kehler, H., Austin, M.P., Mughal, M.K., Wajid, A., Vermeyden, L., Benzies, K., Brown, S., Stuart, S., & Giallo, R. (2018). Trajectories of Maternal Depressive Symptoms During Pregnancy and The First 12 Months Postpartum and Child Externalizing and Internalizing Behavior At Three Years. *PLoS One*, 13(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195365>
- Ostenfeld, A., Petersen, T.S., Pedersen, L.H., Westergaard, H.B., Løkkegaard, E.C.L., & Andersen, J.T. (2022). Mirtazapine Exposure In Pregnancy and Fetal Safety: A Nationwide Cohort Study. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 145(6), 557–567. <https://doi.org/10.1111/acps.13431>
- Räsänen, S., Lehto, S.M., Nielsen, H.S., Gissler, M., Kramer, M.R., & Heinonen, S. (2014). Risk

- Factors For and Perinatal Outcomes of Major Depression During Pregnancy: A Population-Based Analysis During 2002-2010 In Finland. *BMJ Open*, 4(11), 1–8. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-004883>
- Siu, A.L., Bibbins-Domingo, K., Grossman, D.C., Baumann, L.C., Davidson, K.W., Ebell, M., García, F.A.R., Gillman, M., Herzstein, J., Kemper, A.R., Krist, A.H., Kurth, A.E., Owens, D.K., Phillips, W.R., Phipps, M.G., & Pignone, M.P. (2016). Screening for Depression in Adults US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA - Journal of The American Medical Association*, 315(4), 380–387. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.18392>
- Smit, M., Dolman, K.M., & Honig, A. (2016). Mirtazapine in Pregnancy and Lactation - A Systematic Review. *European Neuropsychopharmacol*, 26(1), 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.06.014>
- Sujan, A.C., Rickert, M.E., Quinn, P.D., Ludema, C., Wiggs, K.K., Larsson, H., Lichtenstein, P., Almquist, C., Öberg, A.S., & D'Onofrio, B.M. (2021). A Population-Based Study of Concurrent Prescriptions of Opioid Analgesic and Selective-Serotonin Reuptake Inhibitor Medications During Pregnancy and Risk For Adverse Birth Outcomes. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 35(2), 184–193. <https://doi.org/10.1111/ppe.12721>
- Szegda, K., Markenson, G., Bertone-johnson, E.R., & Chasan-Taber, L. (2014). Depression During Pregnancy: A Risk Factor For Adverse Neonatal Outcomes? A Critical Review of The Literature. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 27(9), 960–967. <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.845157>Depression
- Underwood, L., Waldie, K., D'Souza, S., Peterson, E.R., & Morton, S. (2016). A Review of Longitudinal Studies On Antenatal and Postnatal Depression. *Arch.ives of Women's Mental Health*, 19, 711–720. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00737-016-0629-1>
- Vahia, V.N. (2013). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5: A Quick Glance. *Indian Journal of Psychiatry*, 55(3), 220–223. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.117131>
- Van Niel, M.S. & Payne, J.L. (2020). Perinatal Depression: A Review. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 87(5), 273–277. <https://doi.org/10.3949/ccjm.87a.19054>
- Vigod, S.N., Wilson, C.A., & Howard, L.M. (2016). Depression in Pregnancy. *BMJ (Open)*, 352, 1–9. <https://doi.org/10.1136/bmj.i1547>
- Winterfeld, U., Klinger, G., Panchaud, A., Stephens, S., Arnon, J., Malm, H., Te Winkel, B., Clementi, M., Pistelli, A., Maňáková, E., Eleftheriou, G., Merlob, P., Kaplan, Y.C., Buclin, T., & Rothuizen, L.E. (2015). Pregnancy Outcome Following Maternal Exposure to Mirtazapine. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 35(3), 250–259. <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000000309>
- Woolhouse, H., Gartland, D., Mensah, F., & Brown, S.J. (2014). Maternal Depression From Early Pregnancy To 4 Years Postpartum In A Prospective Pregnancy Cohort Study: Implications For Primary Health Care. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 122(3), 312–321. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12837>
- Zeszutek, S. (2021). Chapter 41 - Antidepressant Use In Pregnancy, in: Sidhartha D. Ray (Ed.), Side Effects of Drugs Annual. Elsevier, pp. 503–512. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.seda.2021.09.009>



Optimization of hand sanitizer gel formula from lime leaf essential oil (*Citrus aurantifolia*) with variations of CMC-Na and glycerin using factorial design

Optimasi formula gel *hand sanitizer* minyak atsiri daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan variasi CMC-Na dan gliserin secara desain faktorial

Agatha Budi Susiana Lestari^{1*}, Elisabet Winarti¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: agatharirin@gmail.com

Abstract

Background: Lime leaves (*Citrus aurantifolia*) contain essential oils that are proven to inhibit the growth of bacteria.

Objective: This study aims to formulate the essential oil from lime leaves in an emulgel dosage form that meets the quality requirements, using CMC-Na as a gelling agent and glycerin as a humectant using factorial design.

Methods: Antibacterial activity tests are carried out using the diffusion method. The positive control used is ceftazidime, while the negative control is DMSO. The quality parameters used are physical properties (organoleptic, homogeneity, pH, viscosity, and spreadability), and physical stability of the preparation (pH shift, viscosity shift, and spreadability shift) using the freeze and thaw method.

Results: Antibacterial test results show that lime leaf essential oil at concentrations of 10, 15, 20, 25, and 50% can inhibit the growth of bacteria that show strong antibacterial activity. Overall, the average test of physical properties and physical stability of the essential oil preparation of lime leaves meets the range of reception, pH 4.5-6.5, viscosity 112.77-180.66 dPa.s., and spreading power 5.55-7.97 cm.

Conclusion: The optimum area specified indicates that all four formulas fulfill the criteria of pH, viscosity, spreadability, and pH shift.

Keywords: CMC-Na, emulgel, essential oil of lime leaves, factorial design, glycerin

Intisari

Latar belakang: Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki kandungan minyak atsiri yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan minyak atsiri daun jeruk nipis dalam sediaan emulgel yang memenuhi persyaratan kualitas, dengan CMC-Na sebagai *gelling agent* dan gliserin sebagai humektan dengan metode desain faktorial.

Metode: Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran, dengan kontrol positif ceftazidime, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan yakni DMSO. Parameter yang digunakan untuk kontrol kualitas sediaan emulgel meliputi uji sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan uji stabilitas fisik (pergeseran terhadap respon pH, respon viskositas, respon daya sebar) dengan metode *freeze and thaw*.

Hasil: Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis pada konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan 50%, semuanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan termasuk dalam kategori kuat. Sediaan emulgel yang dihasilkan memenuhi syarat secara organoleptis maupun sifat fisik sediaan, dengan hasil pH 5-7, viskositas 112,77-180,66 dPa.s dan daya sebar 5,55- 7,97 cm. Untuk stabilitas fisik, sediaan emulgel memenuhi persyaratan pergeseran pH.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil analisis, diperoleh area optimum dari keempat formula memenuhi kriteria pH, viskositas dan daya sebar dan pergeseran pH.

Kata kunci: Minyak atsiri daun jeruk nipis, CMC-Na, gliserin, emulgel, desain faktorial

1. Pendahuluan

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri yang banyak terdapat di lingkungan terutama air dan tanah. Bakteri ini dapat menyebabkan diare, jika masuk ke dalam sistem pencernaan manusia (Abdel-Monem *et al.*, 2014). Bakteri *E. coli* yang berada pada saluran pencernaan bersifat patogen yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, meningitis dan sepsitemia (Farthing *et al.*, 2013). Antiseptik dapat menjadi pilihan utama untuk menjaga kesehatan dan kebersihan tangan yang praktis serta dapat dibawa kemana saja. Salah satu bentuk sediaan yang digunakan oleh masyarakat adalah gel *hand sanitizer* (Shu, 2013). Pada umumnya *hand sanitizer* mengandung alkohol sebagai antiseptik. Penggunaan alkohol terus menerus dapat menimbulkan iritasi dan rasa terbakar pada kulit (Asngad *et al.*, 2018). karena itu dikembangkan gel *hand sanitizer* yang mengandung bahan alam, salah satunya jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Daun jeruk nipis mengandung minyak atsiri, dan salah satu senyawa yang terdapat di dalam minyak atsiri tersebut yaitu *Caryophyllene* (4,5–7,0%). Menurut Al-Aamri *et al.* (2018), minyak atsiri dapat dimanfaatkan sebagai agen antibakteri dan antioksidan.

Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau pembunuhan bakteri dengan mengganggu proses pembentukan membran atau dinding sel agar tidak terbentuk atau terbentuk secara tidak sempurna (Pohan & Djojoputro, 2021). Dalam penelitian ini, minyak atsiri daun jeruk nipis dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan *E. coli*. Alkohol pada gel *hand sanitizer* ini dapat digantikan dengan antibakteri dari bahan alam dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang memiliki senyawa berupa minyak atsiri sebagai agen antibakteri. Minyak atsiri digunakan sebagai bahan aktif yang memiliki sifat lipofil, maka formula yang digunakan dalam bentuk emulgel. Emulgel merupakan sediaan kombinasi emulsi dan gel, yakni campuran emulsi baik tipe M/A ataupun A/M (Ali Khan *et al.*, 2020). Adanya konsentrasi gel memberi kemudahan sediaan untuk menyerap dan menyebar pada media kulit (Singla *et al.*, 2012).

Sediaan gel yang memiliki keuntungan mudah dicuci dengan air, daya lekat tinggi, memberikan rasa dingin pada kulit, dan pelepasan obatnya baik (Sugihartini & Wiradhika, 2017). Selain itu sediaan gel merupakan sarana terbaik untuk pengolahan obat secara topikal dibanding dengan sediaan krim. Stabilitas sediaan emulgel dipengaruhi oleh emulgator, yang berfungsi untuk mencegah terjadinya koalesensi (Sayuti, 2015). Surfaktan dapat ditentukan karakternya dengan nilai HLB (*Hydrophilic-Lipophilic Balance*), dimana sistem emulsi tipe M/A memiliki HLB pada rentang 8-16 (Sheskey *et al.*, 2017). Dalam pembuatan emulsi tipe minyak dalam air (M/A), emulsi yang stabil dapat dibuat dengan menggunakan kombinasi zat pengemulsi yang bersifat hidrofilik dan lipofilik,

dimana kombinasi ini dapat menghasilkan viskositas yang cukup untuk meningkatkan stabilitas dan mencegah terjadinya *creaming* (Sumardi., 2015). Formulasi gel membutuhkan senyawa *gelling agent* sebagai bahan pembentuk gel serta humektan. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan formula optimum berdasarkan parameter sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan uji stabilitas fisik (persen pergeseran terhadap respon pH, respon viskositas, dan respon daya sebar) dengan metode *freeze and thaw*. Optimasi dilakukan menggunakan metode desain faktorial dan dianalisa dengan *Minitab 19*. Metode desain faktorial digunakan untuk melihat pengaruh dan efek dari dua faktor yang dioptimasi dalam formula ini, yaitu antara CMC-Na dan gliserin dalam menghasilkan sediaan gel *hand sanitizer* yang memenuhi persyaratan kualitas, ditinjau dari kriteria sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan uji stabilitas fisik (persen pergeseran terhadap respon pH, respon viskositas, dan respon daya sebar). Pemilihan dua faktor dalam penelitian ini berdasarkan pertimbangan bahwa *gelling agent* dan humektan memegang peranan penting dalam menghasilkan sediaan gel yang berkualitas.

2. Metode

2.1 Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diperoleh dari PT. Eteris Nusantara, suspensi bakteri *Escherichia coli* (dibeli dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi DIY), Media Mueller Hinton Agar (*Oxoid*), DMSO 80%, CMC-Na, gliserin, metilparaben, ceftazidime serbuk injeksi, *Tween 80* dan *Span 80*, akuades steril dan akuades diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Sanata Dharma. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (*Pyrex®*), mikropipet (*Socorex®*), cawan petri, lampu spiritus, jarum ose, *Biology Safety Cabinet (ESCO® class II tipe A2 seri 95067)*, jangka sorong, autoklaf (*ALP KT- 40*), *hotplate*, *magnetic stirrer*, viscotester rion (*VT-04*), pH meter (*Ohaus®*), oven (*Memmert®*), kaca pengukur daya sebar, *mixer (Hand River)*, lemari pendingin, neraca analitik (*Mettler toledo®*) dan wadah pot emulgel.

2.2 Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis

Pada media MHA yang telah memadat dioles dengan bakteri yang telah disuspensikan dengan standar $\pm 0,5$ *Mc Farland*. Tujuan dilakukan standar *Mc Farland* ini untuk menentukan berapa jumlah bakteri yang akan digunakan dalam uji. Media yang telah berisi bakteri dibuat lubang sumuran 0,6 mm dan ditetesi dengan minyak atsiri dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan 50% yang telah

dilarutkan menggunakan DMSO 80% diambil sebanyak 50 µL. Ceftazidime sebagai kontrol positif dan DMSO 80% kontrol negatif diletakkan juga di media. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk dapat mengukur diameter zona hambat (zona bening) di sekitar disk. Dalam penelitian ini, digunakan satu konsentrasi minyak atsiri daun jeruk nipis untuk keempat formula yang diuji.

Tabel 1. Formula Sediaan emulgel dengan desain faktorial

Bahan (g)	1	a	b	ab
Minyak atsiri daun jeruk nipis	11,78	11,78	11,78	11,78
CMC-Na	3	3,25	3	3,25
Gliserin	15	15	17,5	17,5
Span 80	2	2	2	2
Tween 80	5	5	5	5
Metil Paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Akuades ad	100g	100g	100g	100g

2.3 Pembuatan sediaan emulgel

Karboksimetilselulosa dikembangkan dalam air (sesuai dengan masing-masing formula) selama 24 jam supaya terbentuk matrik gel. Fase minyak dibuat dengan mencampurkan minyak atsiri daun jeruk nipis dan *Span 80* lalu dicampur hingga homogen. Setelah fase minyak terbentuk, *Tween 80* ditambahkan dan dicampur hingga homogen. CMC-Na yang telah mengembang dicampur dengan metilparaben yang telah dilarutkan dalam gliserin, dicampur hingga homogen. Akuades ditambahkan sedikit demi sedikit sambil dicampur hingga homogen. Emulgel yang telah homogen dimasukkan ke dalam pot dan diberi label.

2.4 Uji sifat fisik dan stabilitas fisik sediaan emulgel

2.4.1 Uji organoleptis

Pemeriksaan organoleptik dilihat secara visual dengan melihat secara langsung bentuk, warna, bau (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.2 Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan 3 bagian atas, tengah dan bawah dari emulgel pada kaca transparan. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar pada sediaan. Sediaan dinyatakan homogen jika tidak ada partikel padat dan tidak menggumpal (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.3 Uji pH

Sediaan emulgel diambil sebanyak 1 gram, masukkan ke dalam gelas beker dan tambahkan dengan 10 mL akuades lalu diaduk homogen. Elektrode dicelupkan ke dalam emulgel tersebut kemudian diamkan sampai layar pH meter menunjuk angka yang stabil. *Range* pH normal kulit yaitu 4,5-6,5 (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.4 Uji viskositas

Uji viskositas sediaan dilakukan menggunakan Viskometer Rion (*VT-04*). Sediaan dimasukkan ke dalam wadah viskometer kemudian diukur viskositasnya dengan menggunakan *spindle* (rotor) no 2. Nilai viskositas yang baik untuk sediaan emulgel berkisar antara 100–200 dPa.s (Nakhil *et al.*, 2018).

2.4.5 Uji daya sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan cara emulgel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan di tengah kaca bulat berskala, kemudian letakkan kaca penutup dan tambahkan pemberat 150 gram. Diamkan selama 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya. *Range* daya sebar emulgel yang baik antara 5-7 cm (Ratnapuri *et al.*, 2019).

2.4.6 Uji stabilitas fisik sediaan

Uji stabilitas fisik sediaan dilakukan dengan meletakkan sediaan emulgel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pada suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam dan dilanjutkan dengan meletakkan kembali sampel pada suhu panas ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam (1 siklus). Percobaan diulang sebanyak 3 siklus, amati kondisi fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) setelah itu bandingkan sebelum dan sesudah uji (Slamet *et al.*, 2020).

2.4.7 Analisis hasil

Data yang dihasilkan berupa uji sifat fisik meliputi organoleptis (bentuk, warna, bau), pH, viskositas dan daya sebar serta stabilitas fisik gel. Analisis data menggunakan *software Minitab 19* untuk dapat menentukan faktor yang memiliki efek signifikan dalam mempengaruhi efek atau respon yang diamati. Daerah optimum diperoleh dengan penggabungan *contour plot* dari hasil data yang signifikan pada uji sifat fisik dan stabilitas fisik sehingga diperoleh *overlaid plots* yang merupakan area optimum dalam penelitian ini.

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Uji aktivitas aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* diperoleh data bahwa pada semua seri konsentrasi (10, 15, 20, 25 dan 50%) larutan uji memiliki aktivitas antibakteri dan masuk dalam kategori kuat. Kontrol positif ceftazidime menghasilkan aktivitas sebesar 44,99 mm yang masuk ke dalam kategori sangat kuat dan kontrol negatif tidak memberikan hambatan. Penggolongan antibakteri dapat ditentukan berdasarkan diameter zona hambat, yaitu sangat kuat (zona hambat > 20 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm), sedang (zona hambat 5-10 mm), dan lemah (zona hambat < 5 mm) (Surjowardojo *et al.*, 2015). Ceftazidime sebagai kontrol positif memberikan zona hambat karena ceftazidime merupakan antibiotik yang lebih efektif dan tidak mengalami resistensi dalam menghambat *E. coli* dibanding dengan antibiotik yang lain (Pohan *et al.*, 2021). Konsentrasi DMSO 60–80% baik digunakan untuk melarutkan minyak dan tidak menghasilkan aktivitas anti bakteri. Konsentrasi 10% minyak atsiri digunakan dalam formulasi, karena konsentrasi 10% merupakan seri konsentrasi terkecil yang menghasilkan aktivitas antibakteri dengan zona hambat kuat (Brito *et al.*, 2017). Dalam penelitian ini uji antibakteri hanya dilakukan terhadap minyak atsiri daun jeruk nipis, dan tidak dilakukan terhadap sediaan gel *hand sanitizer* yang dibuat. Data hasil uji antibakteri ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis

Konsentrasi (v/v)	Daya sebar (mm)			Rata-rata zona hambat (mm)	SD
	R 1	R 2	R 3		
10 %	10,93	10,91	10	10,61	0,531
15 %	11,91	11,68	11,50	11,69	0,206
20 %	12,66	12,26	13,23	12,71	0,488
25 %	14,01	13,76	13,85	13,87	0,127
50 %	14,46	13,96	14,63	14,35	0,349
Kontrol +	45,21	44,86	44,90	44,99	0,191
Kontrol -	-	-	-	-	-

3.2 Pembuatan sediaan emulgel minyak atsiri daun jeruk nipis

Zat aktif yang digunakan dalam pembuatan emulgel *hand sanitizer* berupa minyak atsiri daun jeruk nipis sebanyak 11,78 gram. *Gelling agent* CMC-Na dikembangkan selama 24 jam supaya terbentuk matrik gel. Fase minyak dibuat dengan mencampurkan minyak atsiri daun jeruk nipis dan

Span 80 lalu dicampur hingga homogen. Setelah fase minyak terbentuk, *Tween* 80 ditambahkan dan dicampur hingga homogen. CMC- Na yang telah mengembang dicampur dengan metilparaben yang telah dilarutkan dalam gliserin, dicampur hingga homogen. Metilparaben ditambahkan sebagai pengawet, dapat digunakan dalam sediaan topikal dengan konsentrasi 0,02 – 0,3%. Akuades ditambahkan sedikit demi sedikit sambil dicampur hingga homogen. Emulgel yang telah homogen dimasukkan ke dalam pot dan diberi label. Pada penelitian ini menggunakan *Tween* 80 dan *Span* 80 sebagai surfaktan yang bersifat nonionik dan aman untuk digunakan. Nilai HLB *Tween* 15 dan *Span* 4,3, nilai ini dapat memberikan HLB yang seimbang, dimana salah satu bersifat hidrofilik dan yang lain bersifat lipofilik. Kombinasi antara nilai HLB menentukan tipe emulsi, baik tipe minyak dalam air (M/A) yang memiliki nilai HLB 8-16 atau tipe emulsi air dalam minyak (A/M) dengan nilai HLB 3-6. Penelitian ini menggunakan nilai HLB campuran 12, dimana jumlah gugus hidrofilik dan lipofiliknya dapat membentuk tipe minyak dalam air (M/A) (Wikantyasning & Indianie, 2021). Selama proses pembuatan sediaan harus dipastikan suhu ruang (20-25°C) dikarenakan sifat minyak atsiri yang mudah menguap.

3.3 Uji sifat fisik sediaan gel

3.3.1 Uji organoleptis

Pengamatan uji organoleptis bertujuan untuk melihat penampilan fisik suatu sediaan yang dilakukan secara visual meliputi bentuk, warna dan bau sediaan emulgel. Hasil yang diperoleh bentuk semisolid, bau khas daun jeruk nipis, dan warna putih susu. Setelah dilakukan penyimpanan *freeze and thaw* sediaan cukup stabil karena tidak mengalami perubahan baik bentuk, bau dan warna.

3.3.2 Uji homogenitas

Pengamatan uji homogenitas bertujuan untuk melihat bahwa semua bahan tercampur rata. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya gumpalan atau butiran kasar pada sediaan emulgel (Ratnapuri *et al.*, 2019). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semua sediaan tercampur merata hal ini terlihat bahwa tidak adanya gumpalan kasar pada sediaan.

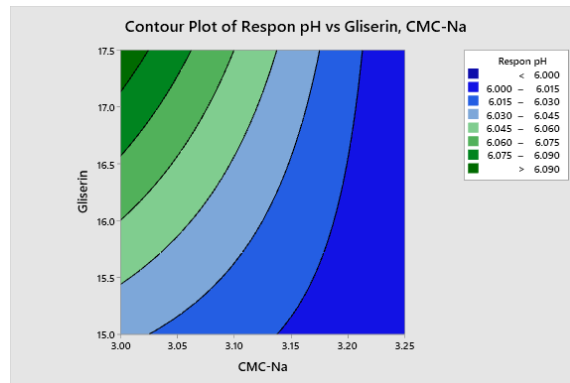
3.2.3 Uji pH dan pergeseran pH

Uji pH dilakukan supaya sediaan emulgel tidak terlalu asam ataupun basa yang dapat mengiritasi kulit. Sediaan emulgel yang baik memiliki range pH normal kulit yaitu 4,5-6,5 (Ratnapuri *et al.*, 2019). Pergeseran pH yang masih dapat diterima sebesar 10% (Rohmani & Kuncoro, 2019). Berdasarkan hasil yang diperoleh, menunjukkan bahwa keempat formula sediaan memiliki pH yang

sesuai pada pH normal kulit sehingga aman digunakan. Persamaan yang diperoleh untuk respon pH adalah :

$$Y = 1,23 + 1,467 (X_1) + 0,347 (X_2) - 0,1067 (X_1X_2) \dots\dots\dots (1)$$

Nilai Y merupakan nilai respon pH, X1 merupakan proporsi CMC- Na, X2 merupakan proporsi gliserin, serta X1X2 merupakan interaksi antara CMC-Na dan gliserin. Berdasarkan perhitungan statistik, diperoleh nilai *p-value* <0,05 dimana nilai *p-value* model sebesar 0,009, dan nilai *p-value* untuk persamaan linear sebesar 0,007 yang berarti nilai model dan persamaan yang dihasilkan bersifat signifikan dan dapat digunakan untuk mencari *overlay plot*. Nilai efek CMC-Na -0,067 yang berarti faktor tersebut memberi efek penurunan terhadap respon pH. Gliserin memiliki nilai efek positif yakni 0,033 yang artinya dapat memberikan efek peningkatan respon pH. Interaksi CMC-Na dan gliserin memiliki nilai negatif -0,033 menunjukkan bahwa interaksi kedua faktor dapat menurunkan respon pH. Persamaan (1) digunakan untuk memprediksi *contour plot* respon pH. Profil respon pH terhadap konsentrasi CMC-Na dan gliserin ditunjukkan pada Gambar 1 berikut.



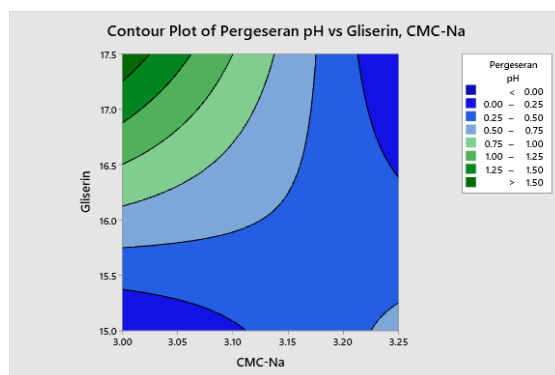
Gambar 1. *Contour plot* respon pH

Gambar 1 menunjukkan area yang dapat menghasilkan pH yang sesuai dengan persyaratan yakni 4,5-6,5. Plot daerah ditunjukkan dengan perbedaan warna. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan peningkatan nilai pH. Sebaliknya warna bergeser ke biru apabila ada peningkatan proporsi CMC-Na yang menyebabkan penurunan nilai pH. Hal ini dapat dikatakan bahwa semakin bertambahnya gliserin respon pH akan semakin meningkat, sebaliknya semakin bertambahnya CMC-Na akan menurunkan respon pH.

Persamaan untuk persen pergeseran pH dan interaksi yang dihasilkan oleh CMC-Na dan gliserin adalah :

$$Y = -177,0 + 55,7 (X_1) + 11,36 (X_2) - 3,563 (X_1X_2) \dots\dots\dots (2)$$

Berdasarkan perhitungan statistik, diperoleh nilai *p-value* <0,05 dimana nilai *p-value* model sebesar 0,009, yang berarti nilai model yang dihasilkan bersifat signifikan dan dapat digunakan untuk mencari *overlay plot*. Nilai efek untuk faktor CMC-Na, gliserin dan interaksi keduanya berturut-turut sebesar -0,557; 0,557 dan -1,113.



Gambar 2. *Contour plot* respon pergeseran pH

Gambar 2 menunjukkan pengaruh penambahan CMC-Na dan gliserin terhadap respon pergeseran pH. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan peningkatan pergeseran nilai pH. Sebaliknya warna bergeser ke biru ketika pada proporsi tertentu antara CMC-Na dan gliserin yang menyebabkan penurunan nilai pH.

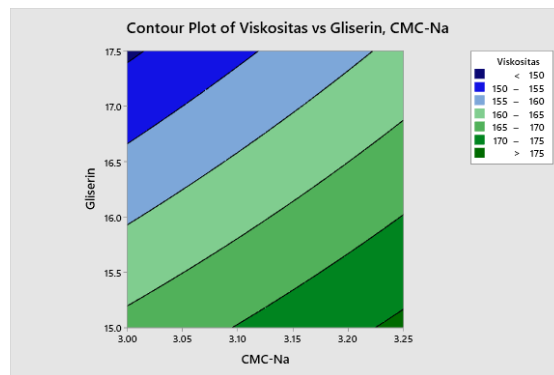
3.3.4 Uji viskositas dan pergeseran viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk melihat kekentalan suatu zat. Semakin tinggi nilai viskositasnya maka semakin tinggi tingkat kekentalan dan hambatan alir zat tersebut (Sayuti, 2015). Uji viskositas sediaan dilakukan menggunakan viskometer rion, dengan spindel no 2, dimana kisaran viskositas emulgel yang baik yakni 100-200 dPa.s (Nakhil *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil uji yang diperoleh, formula I, a, b, dan ab masuk dalam rentang sediaan emulgel *hand sanitizer* yakni 112,77 - 180,66 dPa.s. Persamaan yang diperoleh adalah :

$$Y = 329 - 20,1 (X_1) - 18,59 (X_2) + 3,91 (X_1X_2) \dots\dots\dots (3)$$

Nilai Y merupakan nilai respon viskositas, X_1 notasi untuk CMC- Na, X_2 notasi untuk gliserin, serta X_1X_2 merupakan interaksi antara CMC-Na dan gliserin. Berdasarkan perhitungan statistik, diperoleh nilai *p-value* <0,05 dimana nilai *p-value* model sebesar 0,000, dan nilai *p-value* untuk persamaan linear sebesar 0,000 yang berarti nilai model dan persamaan yang dihasilkan bersifat signifikan dan dapat digunakan untuk mencari *overlay*. Nilai efek CMC-Na, gliserin dan interaksi keduanya berturut-turut adalah 10,890; -15,890; dan 1,223. Gliserin merupakan komponen yang higroskopis oleh karena itu ketika sediaan diberikan perlakuan, gliserin dapat menarik air atau

lembab dari luar yang dapat mengakibatkan konsentrasi gel menjadi lebih encer dan viskositas akan menurun (Sayuti, 2015). Saat viskositas menurun, fase terdispersi menjadi mudah bergerak dalam medium pendispersi sehingga tabrakan antar droplet menjadi tinggi dan cenderung menyatu dan menyebabkan terjadinya peningkatan ukuran partikel (Kailaku *et al.*, 2012). Ukuran partikel yang meningkat mengakibatkan luas kontak antara droplet menjadi lemah dan menurunkan konsentrasi dalam sistem, sehingga viskositas menurun selama penyimpanan (Oktaviasari & Zulkarnain, 2017). Nilai *p-value* CMC-Na dan gliserin memberikan pengaruh terhadap respon viskositas karena memiliki nilai $< 0,05$. Nilai *p-value* interaksi antara CMC-Na dan gliserin tidak memberikan pengaruh yang signifikan karena nilai *p-value* $> 0,05$ yakni 0,132. Persamaan (3) digunakan untuk memprediksi contour plot respon viskositas. Profil respon viskositas terhadap konsentrasi CMC-Na dan gliserin ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. *Contour plot* respon viskositas

Gambar 3 menunjukkan area yang dapat menghasilkan respon viskositas yang sesuai dengan persyaratan yang diinginkan. Plot daerah ditunjukkan dengan perbedaan warna. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi CMC-Na yang menyebabkan peningkatan nilai viskositas. Sebaliknya warna bergeser ke biru apabila ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan penurunan nilai viskositas.

Untuk respon pergeseran viskositas, semua formula mempunyai nilai pergeseran viskositas kurang dari 10%. Suatu sediaan dinyatakan memiliki stabilitas yang baik jika tidak terjadi perubahan yang signifikan selama penyimpanan atau nilai pergeseran viskositas kurang dari 10% (Rohmani & Kuncoro, 2019). Persamaan untuk respon pergeseran viskositas adalah :

$$Y = - 57,0 + 18,7 (X_1) + 3,65 (X_2) - 1,141 (X_1X_2) \dots\dots\dots (4)$$

Nilai *p-value* model yang diperoleh $> 0,05$ yaitu 0,393 untuk model dan 0,641 untuk persamaan linear. Hal ini menunjukkan model dan persamaan yang diperoleh tidak dapat

digunakan memprediksi respon pergeseran viskositas pada level faktor yang digunakan. Pergeseran viskositas dapat dipengaruhi oleh jumlah *Tween* 80 dan *Span* 80 yang tidak sesuai yang mengakibatkan fase terdispersi dapat dengan mudah bergerak dalam fase pendispersi sehingga menyebabkan droplet bergabung menjadi partikel yang lebih besar, dan sediaan akan mengalami creaming (Kailaku *et al.*, 2012). Nilai *p-value* CMC- Na, gliserin dan interaksi kedua faktor masing-masing > 0,05 yaitu 0,854, 0,369 dan 0,156 yang berarti tidak signifikan dan tidak mempengaruhi pergeseran respon viskositas.

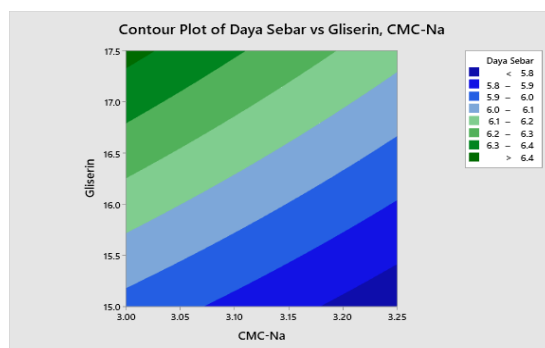
3.3.5 Uji daya sebar dan pergeseran daya sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk melihat kemampuan sediaan emulgel melekat pada kulit saat digunakan. Luas penyebaran sediaan akan mempermudah penggunaan emulgel di kulit, diharapkan absorpsi pada kulit semakin maksimal. Daya sebar sediaan emulgel yang baik memiliki diameter 5-7 cm (Ratnapuri *et al.*, 2019). Berdasarkan pengujian daya sebar yang dilakukan pada emulgel *hand sanitizer* menunjukkan bahwa formula I, a, b dan ab masuk pada rentang 5,96 – 6,43 cm. Persamaan yang diperoleh adalah :

$$Y = 1,17 + 0,67(X_1) + 0,507(X_2) - 0,107(X_1X_2) \dots\dots\dots (5)$$

Nilai Y merupakan nilai respon daya sebar, X₁ merupakan proporsi CMC- Na, X₂ merupakan proporsi gliserin, serta X₁X₂ merupakan interaksi antara CMC-Na dan gliserin. Model dari persamaan diatas memiliki signifikansi *p-value* < 0,05 yakni 0,000 dan *p-value* untuk persamaan linear sebesar 0,000, sehingga model dan persamaan diatas dapat digunakan untuk memprediksi respon daya sebar terbatas pada level faktor yang digunakan. Nilai efek CMC-Na, gliserin, dan interaksi antara CMC-Na dan gliserin berturut-turut adalah -0, 2667; 0,4333 dan -0,033.

Gliserin memiliki nilai efek positif yang artinya dapat memberikan efek peningkatan respon daya sebar. Interaksi antara CMC-Na dan gliserin memiliki nilai negatif yang menunjukkan bahwa interaksi kedua faktor dapat menurunkan respon daya sebar. Berdasarkan perhitungan ANOVA, nilai *p-value* CMC-Na dan gliserin memberikan pengaruh respon daya sebar karena memiliki nilai < 0,05. Nilai *p-value* interaksi antara CMC-Na dan gliserin tidak memberikan pengaruh yang signifikan karena nilai *p-value* > 0,05 yakni 0,347. Profil respon daya sebar terhadap konsentrasi CMC-Na dan gliserin ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Contour plot respon daya sebar

Gambar 4 menunjukkan area yang dapat menghasilkan daya sebar yang sesuai dengan persyaratan. Plot daerah ditunjukkan dengan perbedaan warna. Area akan bergeser ke warna hijau ketika ada peningkatan proporsi gliserin yang menyebabkan peningkatan nilai daya sebar. Sebaliknya warna bergeser ke biru apabila ada peningkatan proporsi CMC-Na yang menyebabkan penurunan nilai daya sebar.

Untuk respon pergeseran daya sebar, semua formula mempunyai nilai pergeseran daya sebar kurang dari 10% (berkisar antara 2,17-3,10%). Pergeseran daya sebar dipengaruhi oleh menurunnya viskositas dimana jika viskositas menurun maka daya sebar akan semakin luas. Suatu sediaan dinyatakan memiliki stabilitas yang baik jika tidak terjadi perubahan yang signifikan selama penyimpanan atau nilai pergeseran viskositas kurang dari 10%. Persamaan untuk respon pergeseran daya sebar adalah :

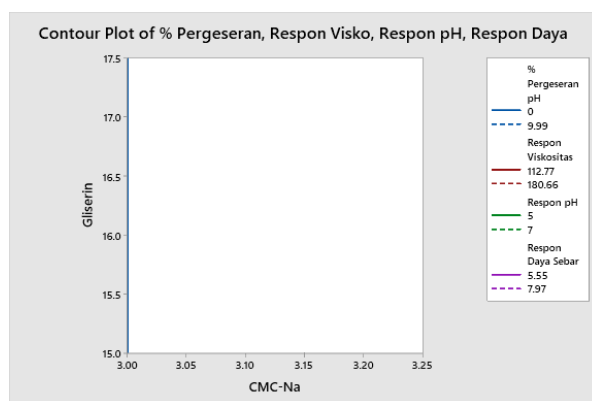
$$Y = -75,5 + 25,5 (X_1) + 5,13 (X_2) - 1,67 (X_1X_2) \dots\dots\dots (6)$$

Nilai model yang dihasilkan tidak signifikan karena nilai *p-value* >0,05 yakni sebesar 0,598. Demikian juga dengan nilai *p-value* persamaan linear juga >0,05 yakni sebesar 0,662 yang artinya model dan persamaan yang dihasilkan tidak dapat digunakan untuk memprediksi respon pergeseran daya sebar terbatas pada level faktor yang diteliti.

Berdasarkan data, nilai efek respon pergeseran CMC-Na sebesar -0,408 yang berarti dapat memberikan efek penurunan terhadap respon pergeseran daya sebar. Gliserin memiliki nilai efek positif (0,212) yang artinya dapat memberikan efek peningkatan respon pergeseran daya sebar. Interaksi antara CMC-Na dan gliserin memiliki nilai negatif (-0,522) yang menunjukkan bahwa interaksi kedua faktor dapat menurunkan respon pergeseran daya sebar. Nilai *p-value* CMC-Na, gliserin dan interaksi > 0,05 yaitu 0,432; 0,679 dan 0,321 yang berarti tidak signifikan dan tidak mempengaruhi pergeseran respon daya sebar.

3.3 Penentuan area optimum

Penentuan daerah optimum diperoleh dengan penggabungan persamaan model yang signifikan dari respon pH, persen (%) pergeseran pH, respon viskositas dan respon daya sebar. Kriteria yang digunakan dengan pH 4,5-6,5, viskositas 112,77-180,66 dPa.s, daya sebar 5,55-7,97 cm dan persen (%) pergeseran pH <10%. Batasan ini diambil berdasarkan referensi dan juga hasil pengujian terhadap sediaan gel *hand sanitizer* yang beredar di masyarakat. *Contour plot* didapat dari penggabungan respon pH, respon viskositas, respon viskositas dan persen (%) pergeseran pH yang digabungkan untuk melihat *overlay plot* seperti pada Gambar 5. Seluruh area berwarna putih, yang menunjukkan bahwa semua area menghasilkan respon yang optimum.



Gambar 5. *Overlay plot* respon pH, viskositas, daya sebar dan persen (%) pergeseran pH

Gambar 5 merupakan *overlay plot* dari CMC-Na dan gliserin. Seluruh area berwarna putih, hal ini menunjukkan bahwa semua area optimum. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa formula 1, formula a, formula b, dan formula ab merupakan formula yang optimum. Hasil pengujian formula 1, a, b dan ab memenuhi parameter sifat fisik (organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar) dan stabilitas fisik (respon pH, respon viskositas, respon daya sebar dan persen (%) pergeseran pH) yang diinginkan. Meskipun demikian, formula 1 memiliki sifat kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan ketiga formula lainnya terutama pada % pergeseran pH, viskositas dan daya sebar yang lebih stabil dibandingkan formula yang lainnya. Salah satu hal yang mendukung diperolehnya respon yang optimum ini karena rentang atau batas variasi faktor masih berada dalam rentang yang sesuai dengan fungsi dari faktor tersebut, dalam hal ini CMC-Na sebagai *gelling agent* dan gliserol sebagai humektan.

4. Kesimpulan

Pada penelitian ini didapat uji antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25 dan 50 %, menunjukkan aktivitas yang kuat. Ditemukan komposisi optimum dari CMC-Na dan gliserin pada sediaan emulgel *hand sanitizer* ditandai dengan area putih pada *overlay plot*. Hasil pengujian formula 1, a, b dan ab memenuhi parameter sifat fisik dan stabilitas fisik yang baik dengan konsentrasi CMC-Na 3 - 3,25 g dan gliserin 15 - 17,5 mL. Seluruh formula yang diuji memberikan respon sifat fisik dan stabilitas fisik yang baik dan memenuhi syarat.

Daftar pustaka

- Abdel-Monem, M.O., Mohamed, E.A., Awad, E.T., Ramadan, A.-H.M., & Mahmoud, H.A. (2014). Multiplex PCR As Emerging Technique For Diagnosis of Enterotoxigenic *E. coli* Isolates From Pediatric Watery Diarrhea. *Journal of American Science*, 10(10), 157–164.
- Al-Aamri, M.S., Al-Abousi, N.M., Al-Jabri, S.S., Alam, T., & Khan, S.A. (2018). Chemical Composition and In-Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activity of The Essential Oil of *Citrus aurantifolia* L. Leaves Grown In Eastern Oman. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 13(2), 108–112. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2017.12.002>
- Ali Khan, B., Ullah, S., Khan, M.K., Alshahrani, S.M., & Braga, V.A. (2020). Formulation and Evaluation of *Ocimum basilicum*-Based Emulgel For Wound Healing Using Animal Model. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(2020), 1842–1850. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.11.011>
- Asngad, A., R, Bagas, R. A. & Nopitasari, N. (2018). Kualitas Gel Pembersih Tangan (Handsanitizer) dari Ekstrak Batang Pisang dengan Penambahan Alkohol, Triklosan dan Gliserin yang Berbeda Dosisnya. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 4(2), 61–70. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v4i2.6888>
- Brito, R.C. de, Silva, G.N. da, Farias, T.C., Ferreira, P.B., & Ferreira, S.B. (2017). Standardization of the Safety Level of the Use of DMSO in Viability Assays in Bacterial Cells. *MOL2NET*, 3, 1–6. <https://doi.org/10.3390/mol2net-03-xxxx>
- Farthing, M., Salam, M.A., Lindberg, G., Dite, P., Khalif, I., Salazar-Lindo, E., Ramakrishna, B.S., Goh, K.L., Thomson, A., Khan, A.G., Krabshuis, J., & Lemair, A. (2013). Acute Diarrhea in Adults and Children: A Global Perspective. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 47(1), 12–20. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31826df662>
- Kailaku, S.I., Hidayat, T., & Setiabudy, D.A. (2012). Pengaruh Kondisi Homogenisasi Terhadap Karakteristik Fisik dan Mutu Santan Selama Penyimpanan. *Jurnal Littri*, 18(1), 31–39.
- Nakhil, U., Kaltsum, U., Purwojati, N., & Latifah, E. (2018). Uji Stabilitas dan Penentuan Formula Optimum pada Gel Madam "Gel Ekstrak Daun Adam Hawa (*Rheo Discolor*) sebagai Gel Antiinflamasi" untuk Penelitian Lanjutan, dalam: *Prosiding APC (Annual Pharmacy Conference)*. hal. 14–24.
- Oktaviasari, L. & Zulkarnain, A.K. (2017). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Lotion O/W Pati Kentang (*Solanum Tuberosum* L.) Serta Aktivitasnya Sebagai Tabir Surya. *Majalah Farmaseutik*, 13(1), 9–27.
- Pohan, D.J. & Djojaputro, M. (2021). Antibacterial Effectiveness of Extracts of Lime (*Citrus Aurantifolia Swingle*) and Kaffir Lime (*Citrus Hystrix Dc*) Leaves Against *Escherichia coli*.

- International Journal of Modern Pharmaceutical Research*, 5(6), 29–36.
- Ratnapuri, P.H., Haitami, F., & Fitriana, M. (2019). Stabilitas Fisik Sediaan Emulgel Ekstrak Etanol Daging Buah Limpasu (*Baccaurea lanceolata* (Miq.) Müll. Arg.). *Jurnal Pharmascience*, 6(2), 8–18. <https://doi.org/10.20527/jps.v6i2.7345>
- Rohmani, S. & Kuncoro, M.A.A. (2019). Uji Stabilitas dan Aktivitas Gel Handsanitizer Ekstrak Daun Kemangi. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(1), 16–28. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i1.27212>
- Sayuti, N.A. (2015). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 74–82. <https://doi.org/10.22435/jki.v5i2.4401.74-82>
- Sheskey, P.J., Cook, W.G., & Cable, C.G. (2017). *Handbook of Pharmaceutical Excipients, 8th ed.* London: The Pharmaceutical Press.
- Shu, M. (2013). Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Dengan Bahan Aktif Triklosan 0,5% dan 1%. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), 1–14.
- Singla, V., Saini, S., Joshi, B., & Rana, A.C. (2012). Emulgel: A New Platform For Topical Drug Delivery. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(1), 485–498.
- Slamet, S., Anggun, B.D., & Pambudi, D.B. (2020). Uji Stabilitas Fisik Formula Sediaan Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 13(2), 115–122. <https://doi.org/10.48144/jiks.v13i2.260>
- Sugihartini, N. & Wiradhika, R.Y. (2017). Gel Formulation of Ethanol Extract of Mangosteen Peel (*Garcinia mangostana* L.) as A Medication for Burns in Wistar Rats. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 8(2), 110–117. <https://doi.org/10.20885/jkki.vol8.iss2.art6>
- Sumardi, D. P., 2015. Pengaruh Span 80 dan Tween 80 sebagai surfaktan terhadap Sifat Fisik dan Stabilitas Fisik Emulsi Ekstrak Etanol Biji Kluwak dengan Aplikasi Desain Faktorial. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta
- Wikantyasning, E.R. & Indianie, N. (2021). Optimisasi Tween 80 dan Span 80 Sebagai Emulgator dalam Formula Krim Tabir Surya Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* M.) dan Nanopartikel Seng Oksida Dengan Metode Simplex Lattice Design. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.61902/cerata.v12i1.198>



Cost-effectiveness comparison of antidiabetic drugs combination therapy metformin-glimepiride and acarbose-glimepiride

Perbandingan efektivitas biaya terapi kombinasi obat antidiabetik metformin- glimepirid dan acarbose-glimepirid

Nden Ajeng Tresnawati^{1*}, Hany Yusmaini¹, Mila Citrawati¹, Erna Harfiani¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, Indonesia

Corresponding author: najengtresnawati@upnvi.ac.id

Abstract

Background: Type 2 diabetes mellitus (DM) is one of the cardiometabolic diseases with the highest prevalence worldwide, including Indonesia. The increasing number of type 2 DMs is known to have become an economic burden on Indonesia's health sector. There are several options for treating type 2 DM, either with monotherapy or in combination. At present, metformin, sulfonylurea, and acarbose have become common drugs in the treatment of type 2 DM. Variations in antidiabetic drugs will cause differences in therapy cost and effectiveness.

Objective: The purpose of this study is to analyze the cost-effectiveness of the combination therapy of metformin-glimepiride and acarbose-glimepiride antidiabetic drugs in patients with type 2 DM at RSUD Sumedang in 2021 based on the hospital's perspective.

Method: This study collected data by documenting medical records and patient costs from January to December 2021 using a cross-sectional design on 60 samples.

Results: Findings from the statistical analysis showed that the combination of metformin and glimepiride did not make a difference in GDS (mean difference 10.70 mg/dL-1; p-value = 0.457). The average total direct medical costs of the acarbose-glimepiride group were higher than that of the metformin-glimepiride group, and there was a significant difference between the average costs of the antidiabetic drugs (p-value = 0.000).

Conclusion: The combination of metformin-glimepiride therapy is more cost-effective than acarbose-glimepiride, with an ACER value of metformin-glimepiride Rp. 3,037.48.

Keywords: Acarbose, cost effectiveness analysis, glimepiride, metformin, type 2 DM

Intisari

Latar belakang: Diabetes Melitus (DM) tipe 2 merupakan salah satu penyakit kardiometabolik dengan prevalensi tertinggi di seluruh dunia termasuk Indonesia. Peningkatan jumlah DM tipe 2 diketahui telah menjadi beban ekonomi bagi sektor kesehatan di Indonesia. Terdapat beberapa pilihan terapi dalam pengobatan DM tipe 2 baik secara monoterapi maupun kombinasi beberapa obat. Saat ini obat metformin, sulfonilurea, dan acarbose telah menjadi obat umum dalam pengobatan DM tipe 2 di Indonesia. Variasi terapi obat antidiabetik akan menyebabkan adanya perbedaan biaya dan efektivitas terapi.

Tujuan: Tujuan penelitian ini untuk menentukan efektivitas biaya terapi kombinasi obat antidiabetik metformin-glimepirid dan acarbose-glimepirid pada pasien DM tipe 2 Instalasi Rawat Jalan di RSUD Sumedang Tahun 2021 berdasarkan perspektif rumah sakit.

Metode: Penelitian ini menggunakan desain studi potong-lintang pada 60 sampel dengan pengambilan data dilakukan secara dokumentasi terhadap data rekam medis dan biaya pasien periode Januari-Desember 2021.

Hasil: Hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna selisih GDS pada kombinasi metformin-glimepirid dan acarbose-glimepirid (rata-rata perbedaan 10,70 mg/dL-1; nilai-p=0.457). Rata-rata total biaya langsung medis kelompok acarbose-glimepirid lebih tinggi dibandingkan metformin-glimepirid serta terdapat perbedaan bermakna rata-rata biaya obat antidiabetik (nilai-p=0.000).

Kesimpulan: Kombinasi terapi metformin-glimepirid lebih *cost-effective* dibandingkan acarbose-glimepirid dengan nilai ACER metformin-glimepirid Rp. 3.037,48.

Kata Kunci: Acarbose, analisis efektivitas biaya, DM tipe 2, glimepirid, metformin

1. Pendahuluan

International Diabetes Federation (IDF) mencatat 537 juta orang dewasa atau 1 dari 10 orang hidup di seluruh dunia mengalami diabetes selama tahun 2019. Saat ini, Indonesia telah menduduki peringkat 5 dunia dengan pasien diabetes melitus (DM) terbanyak yaitu 10,7 juta jiwa (*International Diabetes Federation*, 2019). Kabupaten Sumedang merupakan kabupaten dengan persentase angka DM tertinggi di provinsi Jawa Barat yang mencapai 2,31% dan 72,33% diantaranya menjalani pengobatan dengan obat antidiabetik (OAD) oral (Kementerian Kesehatan RI, 2018). Data Dinas Kesehatan (Dinkes) Kabupaten Sumedang menyebutkan jumlah penderita DM pada tahun 2020 meningkat menjadi 76,581 orang dibandingkan tahun 2019 sebanyak 48,304 orang (RSUD Sumedang, 2022).

Pengobatan DM tipe 2 menggunakan OAD oral dan/atau suntik dapat secara tunggal atau kombinasi dengan OAD berbeda yang dimulai dari dosis rendah (Perkeni, 2021). Target terapi yang tidak tercapai setelah 3 bulan pengobatan dengan OAD tunggal dapat diberikan terapi kombinasi (ADA, 2020). Variasi monoterapi OAD atau kombinasi akan menimbulkan perbedaan harga dan efektivitas pengobatan (Putra *et al.*, 2021). Berdasarkan studi pra penelitian, terdapat perbedaan terapi kombinasi yang sering diberikan kepada pasien DM tipe 2 di RSUD Sumedang dengan rekomendasi yang diberikan oleh Perkeni, terapi kombinasi yang sering diberikan kepada pasien DM tipe 2 adalah kombinasi sulfonilurea dengan obat oral lainnya (RSUD Sumedang, 2022).

Sulfonilurea generasi pertama memiliki efek samping utama hipoglikemia sedangkan generasi kedua dianggap relatif lebih aman. Kelebihan inilah yang menyebabkan sulfonilurea generasi kedua lebih sering digunakan. Glimepirid pada dosis rendah dapat menurunkan kadar glukosa darah yang lebih besar dengan efek samping rendah pada pasien yang belum mencapai glukosa darah normal dengan terapi tunggal metformin (Kalra *et al.*, 2018).

Penelitian Devarajan *et al.* (2017) menyebutkan kombinasi metformin-glimepirid memberikan efektivitas kontrol gula darah yang signifikan dibandingkan dengan kombinasi acarbose-glimepirid. Temuan tersebut selaras dengan penelitian lainnya bahwa penggunaan terapi kombinasi metformin-glimepirid dapat memberikan kontrol gula darah yang baik pada seluruh kelompok usia pada awal diberikannya terapi kombinasi (Sahay *et al.*, 2020). Namun, efek samping pengobatan DM terus meningkat seperti risiko hipoglikemia dan peningkatan berat badan. Pengobatan dengan golongan alfa-glukosidase inhibitor seperti acarbose sangat berguna untuk pasien yang berisiko mengalami peningkatan berat badan (Haq *et al.*, 2021). Penelitian Wafa *et al.*, (2021) menyebutkan penambahan acarbose dalam terapi bersama sulfonilurea dapat menyebabkan

kontrol gula darah yang signifikan dengan biaya yang minimal. Kombinasi sulfonilurea dan acarbose efektif dalam mengontrol gula darah *post-prandial*, sehingga pengobatan DM tipe 2 dengan kombinasi acarbose dan golongan sulfonilurea sering diberikan bagi pasien yang rentan mengalami hiperglikemia *post-prandial* (Yang *et al.*, 2019; Yen *et al.*, 2021).

Pengobatan DM tipe 2 membutuhkan waktu yang lama bahkan harus dilakukan seumur hidup pasien, sehingga jumlah biaya yang dikeluarkan tidak sedikit. *Systematic review* memperkirakan bahwa biaya diabetes di seluruh dunia mencapai lebih dari US\$ 827 miliar per tahun (WHO, 2016). Data nasional di Indonesia yang diperoleh dari Badan Penyelenggara Jaminan Sosial (BPJS) Kesehatan dalam Shaquilla (2020), menyatakan besarnya biaya INA CBG's untuk penyakit kardiometabolik khususnya DM menempati peringkat dua teratas dengan biaya pengobatan termahal yaitu sebesar Rp 9,2 triliun.

Tingginya angka diabetes di seluruh dunia berdampak terhadap beban ekonomi sistem kesehatan sehingga diperlukan analisis terhadap efektivitas biaya pengobatan untuk menentukan jenis pengobatan yang ideal baik dari biaya yang dikeluarkan maupun efektivitas pengobatan. Berdasarkan prinsip dan metode farmakoekonomi, rencana pengobatan yang efektif dan ekonomis dapat memberikan dasar objektif untuk pengambilan keputusan pengobatan (Alzarea *et al.*, 2022).

2. Metode

2.1 Rancangan penelitian dan teknik pengumpulan sampel

Penelitian ini menggunakan desain potong lintang yang dilakukan pada bulan Agustus-September 2022 di RSUD Sumedang. Objek penelitian yang digunakan adalah data rekam medis dan biaya pasien. Penelitian telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta dengan nomor 383/IX/2022/KEPK.

Teknik pengambilan sampel menggunakan total *sampling* berdasarkan rumus uji hipotesis analitik tidak berpasangan. Jumlah sampel masing-masing kelompok yaitu 39 pasien menggunakan terapi metformin-glimepirid dan 21 pasien menggunakan terapi acarbose-glimepirid. Kriteria inklusi sampel penelitian diantaranya pasien merupakan pasien DM tipe 2 di instalasi rawat jalan; informasi data yang lengkap; melakukan kontrol 1 bulan setelah mendapatkan terapi kombinasi metformin-glimepirid atau acarbose-glimepirid; dan menggunakan BPJS Kesehatan. Kriteria eksklusi penelitian ini diantaranya mendapatkan tambahan terapi OAD lainnya atau insulin; melakukan terapi hemodialisis bersamaan dengan terapi OAD; memiliki komplikasi mikrovaskular atau

makrovaskular; mengonsumsi obat kortikosteroid pada saat dilakukan penelitian; serta melanjutkan terapi di Puskesmas dan Klinik Pratama. Pada penelitian ini, analisis efektivitas biaya dilakukan berdasarkan perspektif lembaga penyedia layanan kesehatan atau rumah sakit. Komponen biaya yang diukur yaitu biaya langsung medis yang terdiri dari biaya terapi kombinasi obat antidiabetik metformin-glimepirid atau acarbose-glimepirid, biaya pemeriksaan laboratorium selama 1 bulan terapi, biaya pelayanan RS, dan biaya jasa dokter.

2.2 Deskripsi penelitian

Analisis biaya ini menggunakan perspektif rumah sakit dengan memperhitungkan biaya langsung medis. Perhitungan efektivitas terapi dilakukan dengan mengukur selisih kadar glukosa darah sewaktu pasien selama satu bulan. Perhitungan harga obat antidiabetik yang diambil merupakan harga obat antidiabetik generik sesuai harga yang tercantum pada data *billing* pasien yang terlampir di data keuangan. Total biaya langsung medis adalah hasil penjumlahan seluruh biaya medis selama menjalani perawatan meliputi biaya obat (obat antidiabetik), laboratorium, dan administrasi selama pengobatan DM tipe 2 dengan program pengobatan kombinasi antidiabetik metformin-glimepirid dan acarbose-glimepirid.

Biaya kombinasi OAD adalah biaya obat berdasarkan data *billing* yang diberikan selama satu bulan pengobatan atau 30 hari sesuai dengan dosis dan jenis obat yang ditentukan oleh dokter. Biaya laboratorium adalah biaya untuk melakukan pemeriksaan glukosa darah sewaktu selama dua kali di RSUD Sumedang yaitu sebelum dan sesudah menggunakan terapi kombinasi dengan ketetapan harga. Biaya administrasi yang diperhitungkan dalam penelitian ini didasarkan pada ketetapan di RSUD Sumedang. Jumlah biaya laboratorium, dan biaya administrasi yang dikeluarkan oleh setiap pasien adalah tetap sehingga biaya yang dibebankan kepada setiap pasien sama besar.

2.3 Analisis data

Analisis efektivitas biaya dikalkulasi dengan menggunakan rumus *Average Cost Effectiveness Ratio* (ACER) dan *Incremental Cost Effectiveness Ratio* (ICER) (Kementerian Kesehatan RI, 2013). Perbedaan efektivitas dan biaya antara kelompok terapi metformin-glimepirid dan acarbose-glimepirid menggunakan uji *Mann-Whitney* dengan signifikansi $p < 0,05$.

$$ACER = \frac{\text{Biaya pengobatan (Rp)}}{\text{Efektivitas Pengobatan (\%)}}$$

$$ICER = \frac{\text{Biaya pengobatan}_a \text{ (Rp)} - \text{Biaya pengobatan}_b \text{ (Rp)}}{\text{Efektivitas pengobatan}_a \text{ (\%)} - \text{Efektivitas pengobatan}_b \text{ (\%)}}$$

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Karakteristik pasien

Sebanyak 60 pasien telah memenuhi kriteria penelitian dengan sebaran 39 pasien menggunakan terapi metformin-glimepirid dan 21 pasien menggunakan terapi acarbose-glimepirid. Berdasarkan Tabel 1, mayoritas pasien dalam penelitian berusia ≥ 65 Tahun (60%) dan berjenis kelamin perempuan (73,33%). Hasil ini sesuai dengan penelitian Riskesdas (2018) Nasional dan Jawa Barat bahwa jumlah pasien DM tipe 2 terbanyak berada pada usia ≥ 65 tahun dan diperkirakan akan meningkat dari 122,8 juta pada tahun 2017 menjadi 253,5 juta pada tahun 2045 (Cho *et al.*, 2018). Pertambahan usia dapat menyebabkan penurunan kapasitas sel beta pankreas dalam mensekresikan insulin sehingga berdampak terhadap penurunan sensitivitas insulin di jaringan (Lee *et al.*, 2017). Seiring bertambahnya usia, beberapa orang kehilangan kemampuan untuk mengatur kadar glukosa darah dibandingkan ketika usia muda. Penurunan toleransi glukosa dari usia muda (17 – 39 tahun) hingga usia ≥ 65 tahun dijelaskan oleh pengaruh distribusi lemak tubuh dan aktivitas fisik (Chia *et al.*, 2018). Sebaliknya, penelitian (Fitriyani *et al.*, 2021) menunjukkan kelompok usia tertinggi yang mengalami DM tipe 2 adalah kelompok usia < 65 tahun yaitu sebanyak 66,3% namun secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada faktor usia pasien DM tipe 2 tersebut. Perbedaan hasil penelitian tersebut dapat disebabkan karena jumlah sampel yang kecil dan ketidakseimbangan jenis kelamin pada kelompok tua dan muda.

Tabel 1. Hasil analisis univariat kategori usia dan jenis kelamin

Kategori	Total	Metformin-glimepirid	Acarbose-glimepirid
Usia			
≥ 65 Tahun	36 (60%)	23 (58,97%)	13 (61,9%)
< 65 Tahun	24 (40%)	16 (41,03%)	8 (38,1%)
Jenis Kelamin			
Laki-laki	16 (26,67%)	9 (23,1%)	7 (33,33%)
Perempuan	44 (73,33%)	30 (33,33%)	14 (66,67%)

Prevalensi DM tipe 2 di RSUD Sumedang lebih banyak perempuan dibandingkan laki-laki. Risiko yang lebih besar pada perempuan daripada laki-laki dalam kejadian DM tipe 2 dapat disebabkan karena perempuan mengalami menstruasi setiap bulan dan saat *menopause* menyebabkan lebih mudah terjadi akumulasi distribusi lemak tubuh akibat proses hormonal tersebut (Kautzky *et al.*, 2016). Hasil penelitian ini bertolak belakang dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa jenis kelamin laki-laki lebih berpengaruh terhadap kejadian diabetes khususnya DM tipe 2. Penelitian Bahendeka *et al.*, (2016) melaporkan prevalensi diabetes melitus antara laki-laki dan perempuan adalah 1,6% dan 1,1%. Laki-laki terutama yang memiliki kadar testosteron

rendah atau hipogonadisme lebih mungkin untuk mengalami obesitas, resistensi insulin, dan hiperglikemia (Harreiter *et al.*, 2018; Tramunt *et al.*, 2020).

3.2 Outcome terapi

Kadar glukosa darah sewaktu menjadi *outcome* efektivitas terapi yang digunakan dalam penelitian ini. Perhitungan dilakukan dengan mengukur selisih kadar GDS pasien sebelum dan setelah diberikan terapi kombinasi OAD selama satu bulan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil rata-rata selisih penurunan glukosa darah (Δ GDS) kombinasi metformin-glimepirid ($54,85 \text{ mg/dL}^{-1}$) yang lebih baik daripada acarbose-glimepirid ($44,10 \text{ mg/dL}^{-1}$) meskipun secara statistik perbedaan tersebut tidak bermakna (rata-rata perbedaan $10,70 \text{ mg/dL}^{-1}$; $p=0,457$; Tabel 2).

Penelitian Isnani (2021) dan Yuswantina *et al.*, (2017) pun menyebutkan bahwa efektivitas metformin-glimepirid mencapai angka 100% sedangkan acarbose-glimepirid hanya 60%. Penggunaan metformin dalam terapi dapat menyebabkan penurunan penyerapan glukosa di usus, peningkatan sensitivitas insulin, dan penurunan produksi glukosa di hati dibandingkan dengan acarbose (Jia *et al.*, 2019). Namun, hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Liu *et al.*, (2018) efektivitas penggunaan acarbose-glimepirid lebih baik daripada metformin-glimepirid karena penggunaan glimepirid dapat meningkatkan efek terapeutik acarbose melalui peningkatan sensitivitas jaringan perifer terhadap insulin sehingga secara signifikan memengaruhi hiperglikemia *post-prandial*.

Tabel 2. Perbandingan efektivitas terapi kombinasi obat antidiabetik

Jenis	N	Rata-rata Δ GDS (mg/dL ⁻¹)	<i>p-value</i>	Perbedaan rata-rata GDS (mg/dL ⁻¹)
Metformin-glimepirid	39	$54,85 \pm 60,302$	0,457 ^a	10,70
Acarbose-glimerpiride	21	$44,10 \pm 51,988$		

^a: analisis menggunakan uji *Mann-Whitney*

Salah satu hal yang dapat menyebabkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada penurunan kadar glukosa darah pasien dapat disebabkan karena pengukuran kadar GDS pada pasien dilakukan hanya setelah 1 bulan terapi. Rekomendasi konsensus ADA (2020) dan Perkeni (2021) menyarankan untuk melakukan pengukuran HbA1c setelah 3 bulan terapi sebagai evaluasi target terapi DM tipe 2. Pengukuran HbA1c dilakukan setiap 2-3 bulan sekali mengikuti usia sel darah merah sebagai *index* kontrol kadar glukosa dalam darah jangka panjang (Perkeni, 2021).

Faktor lain yang dapat menyebabkan tidak terdapat perbedaan bermakna penurunan glukosa darah pasien berkaitan dengan gaya hidup dan kepatuhan pasien dalam mengonsumsi obat. Pengurangan konsumsi kalori termasuk karbohidrat pada pasien DM tipe 2 dapat berpengaruh

terhadap kadar glukosa darah sehingga dapat memperbaiki kualitas hidup pasien (Franz *et al.*, 2015). Gaya hidup seperti penggunaan karbohidrat yang lebih banyak seperti pada masyarakat *Eastern Group* termasuk Indonesia berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah (Samsudin *et al.*, 2021). Faktor lainnya yaitu kepatuhan konsumsi obat menjadi salah satu faktor yang berpengaruh terhadap efektivitas terapi karena tingkat kepatuhan yang rendah dapat menyebabkan kontrol gula darah yang kurang baik (Lin *et al.*, 2017).

3.3 Biaya langsung medis

Berdasarkan rata-rata biaya langsung medis setiap pasien pada penelitian ini menunjukkan bahwa terapi DM Tipe 2 dengan kombinasi acarbose-glimepirid memerlukan biaya yang lebih mahal (Rp. 251,801,43) dibandingkan dengan menggunakan terapi kombinasi metformin-glimepirid (Rp. 166,605,59). Secara statistic, biaya pada 2 kombinasi OAD tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,457$). Biaya obat antidiabetik yang berbeda pada setiap pasien memengaruhi jumlah biaya medis langsung yang dikeluarkan. Biaya laboratorium dan biaya administrasi tidak berpengaruh secara signifikan karena jumlah biaya yang dibebankan kepada setiap pasien sama meskipun secara jumlah memengaruhi hasil akhir biaya langsung medis.

Tabel 3. Perbandingan rata-rata biaya langsung medis terapi kombinasi metformin-glimepirid dan acarbose-glimepirid

Komponen biaya	Biaya (Rp)		p-value
	Metformin-glimepirid	Acarbose-glimepirid	
Kombinasi OAD	Rp. 31.605,59±16.724,606 (11.970-79.770)	Rp. 116.801,43±43.175,310 (67.020-204.210)	0,000*
Laboratorium	Rp. 45.000,00±0	Rp. 45.000,00±0	1,000*
Administrasi	Rp. 90.000,00±0	Rp. 90.000,00±0	1,000*
Total biaya	Rp. 166.605,59 (146.970-214.770)	Rp. 251.801,43 (202.020-339.210)	0,000*

OAD=Obat antidiabetik; Data ditampilkan dalam *mean±SEM (min-max)*; *analisis menggunakan uji *Mann-Whitney*

Biaya kombinasi OAD adalah biaya obat berdasarkan data *billing* yang diberikan selama satu bulan pengobatan atau 30 hari sesuai dengan dosis dan jenis obat yang ditentukan oleh dokter. Biaya laboratorium adalah biaya untuk melakukan pemeriksaan glukosa darah sewaktu selama dua kali di RSUD Sumedang yaitu sebelum dan sesudah menggunakan terapi kombinasi dengan ketetapan harga Rp. 45.000,00. Biaya administrasi yang diperhitungkan dalam penelitian ini didasarkan pada ketetapan di RSUD Sumedang yaitu sebesar Rp. 90.000,00.

3.4 Analisis efektivitas biaya

Analisis efektivitas biaya dilakukan dengan menggunakan rumus ACER. Besaran nilai ACER yang diperoleh untuk terapi kombinasi metformin-glimepirid adalah Rp. 3.037,48, sedangkan untuk terapi kombinasi acarbose-glimepirid adalah Rp. 5.709,78 sesuai dengan yang tercantum pada Tabel 4. Dengan demikian, terapi kombinasi metformin-glimepirid lebih efektif dibandingkan dengan terapi kombinasi acarbose-glimepirid.

Tabel 4. Perhitungan analisis efektivitas biaya terapi

	Metformin-glimepirid	Acarbose-glimepirid
Total biaya =(Rp)	Rp. 166.605,59	Rp. 251.801,43
Efektivitas terapi (mg/dL ⁻¹)	54,85	44,10
ACER (Rp)	Rp. 3.037,48	Rp. 5.709,78

ACER=Average Cost Effectiveness Ratio

Hasil perhitungan ACER pada terapi kombinasi metformin-glimepirid yaitu Rp. 2.698,63 sedangkan kombinasi acarbose-glimepirid Rp. 4.496,702. Hasil perhitungan ACER tersebut menunjukkan besarnya biaya yang dikeluarkan untuk menurunkan 1 mg/dL-1 glukosa darah dalam setiap bulan pengobatan. Hasil perhitungan ACER yang lebih kecil menunjukkan bahwa terapi tersebut lebih *cost effective* (Pribadi & Permana, 2018). Temuan Isnani (2021) mendukung hasil penelitian ini bahwa terapi kombinasi obat antidiabetik yang paling *cost effective* berdasarkan nilai ACER adalah kombinasi glimepirid dan metformin dengan besaran nilai ACER ±Rp. 1,252,00. Penelitian lain yang dilakukan Liu (2018) bahwa kombinasi metformin-glimepirid merupakan kombinasi yang paling *cost effective* karena glimepirid yang dikombinasikan dengan metformin dapat secara signifikan meningkatkan sensitivitas jaringan perifer terhadap insulin.

Tabel 5. Tabel efektivitas biaya

Efektivitas - biaya	Biaya lebih rendah	Biaya sama	Biaya lebih tinggi
Efektivitas lebih rendah	A	B	C
Efektivitas sama	D	E	F
Efektivitas lebih tinggi	Metformin-glimepirid terhadap acarbose-glimepirid		Acarbose-glimepirid terhadap metformin-glimepirid
	G	H	I

ACER=Average Cost-Effectiveness Ratio

Berdasarkan tabel efektivitas dan biaya terapi pada Tabel 5, posisi terapi kombinasi metformin-glimepirid terhadap acarbose-glimepirid berada pada posisi D (efektivitas terapi yang sama dengan biaya langsung medis lebih murah) sedangkan terapi kombinasi acarbose-glimepirid terhadap metformin-glimepirid berada di posisi F (efektivitas terapi yang sama dengan biaya langsung medis lebih mahal) sehingga tidak diperlukan perhitungan ICER karena kombinasi acarbose-glimepirid tidak dapat digunakan sebagai pilihan.

4. Kesimpulan

Terdapat perbedaan penurunan kadar GDS pasien DM tipe 2 setelah satu bulan menggunakan terapi kombinasi metformin-glimepirid dan acarbose-glimepirid, namun secara statistik perbedaan tersebut tidak bermakna. Besar biaya terapi rata-rata per bulan pasien DM tipe 2 menunjukkan kombinasi metformin-glimepirid lebih rendah yaitu Rp. 166.605,59, sedangkan acarbose-glimepirid Rp. 251.801,43. Secara statistik, terdapat perbedaan bermakna pada biaya rata-rata per bulan tersebut. Kombinasi terapi metformin-glimepirid lebih *cost effective* dibandingkan acarbose-glimepirid dengan nilai ACER Rp. 3.037,48.

Daftar pustaka

- ADA. (2020). *Standards of Medical Care in Diabetes — 2020 Abridged for Primary Care Providers*. 29.
- Alzarea, A. I., Khan, Y. H., Alanazi, A. S., Butt, M. H., Almalki, Z. S., AlAhmari, A. K., Alshali, S., & Mallhi, T. H. (2022). Barriers and Facilitators of Pharmacoeconomic Studies: A Review of Evidence from the Middle Eastern Countries. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(13), 7862. <https://doi.org/10.3390/IJERPH19137862>
- Bahendeka, S., Wesonga, R., Mutungi, G., Muwonge, J., Neema, S., & Guwatudde, D. (2016). Prevalence and correlates of diabetes mellitus in Uganda: a population-based national survey. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 21(3), 405–416. <https://doi.org/10.1111/TMI.12663>
- Chia, C. W., Egan, J. M., & Ferrucci, L. (2018). Age-related Changes in Glucose Metabolism, Hyperglycemia, and Cardiovascular Risk. *Circulation Research*, 123(7), 886. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.312806>
- Cho, N. H., Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 138, 271–281. <https://doi.org/10.1016/J.DIABRES.2018.02.023>
- Fitriyani, F., Andrajati, R., & Trisna, Y. (2021). Analisis Efektivitas-Biaya Terapi Kombinasi Metformin-Insulin dan Metformin-Sulfonilurea pada Pasien Rawat Jalan dengan Diabetes Melitus Tipe 2 di RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 10(1), 10. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2021.10.1.10>
- Franz, M. J., Boucher, J. L., Rutten-Ramos, S., & VanWormer, J. J. (2015). Lifestyle weight-loss intervention outcomes in overweight and obese adults with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(9), 1447–1463. <https://doi.org/10.1016/J.JAND.2015.02.031>
- Harreiter, J., & Kautzky-Willer, A. (2018). Sex and Gender Differences in Prevention of Type 2 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 220. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2018.00220>
- International Diabetes Federation - Home. (2019). Retrieved June 19, 2022, from <https://www.idf.org/>
- Isnani, N., Mulyani, M., Zaini, M., & Arif Riyadi, M. (2021). Analisis Efektivitas Biaya (Cost-Effectiveness) Penggunaan Antidiabetes Oral Kombinasi Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe Ii Rawat Jalan Di Rsud Dr. H. Moch. Ansari Saleh Banjarmasin. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(1), 103–110. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.683>

- Jia, W., Weng, J., Zhu, D., Ji, L., Lu, J., Zhou, Z., Zou, D., Guo, L., Ji, Q., Chen, L., Chen, L., Dou, J., Guo, X., Kuang, H., Li, L., Li, Q., Li, X., Liu, J., Ran, X., ... Zhao, Z. (2019). Standards of medical care for type 2 diabetes in China 2019. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 35(6), e3158. <https://doi.org/10.1002/DMRR.3158>
- Kalra, S., Bahendeka, S., Sahay, R., Ghosh, S., Md, F., Orabi, A., Ramaiya, K., Shammari, S. al, Shrestha, D., Shaikh, K., Abhayaratna, S., Shrestha, P. K., Mahalingam, A., Askheta, M., Rahim, A. A. A., Eliana, F., Shrestha, H. K., Chaudhary, S., Ngugi, N., ... Das, A. K. (2018). Consensus recommendations on sulfonylurea and sulfonylurea combinations in the management of Type 2 diabetes mellitus - International Task Force. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 22(1), 132–157. https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM_556_17
- Kautzky-Willer, A., Harreiter, J., & Pacini, G. (2016). Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews*, 37(3), 278–316. <https://doi.org/10.1210/ER.2015-1137>
- Kementerian Kesehatan RI. (2013). *Pedoman Penerapan Kajian Farmakoekonomi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. (2018). Riskesdas. In *Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB). <https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/lpb/article/view/3662>
- Lee, P. G., & Halter, J. B. (2017). The Pathophysiology of Hyperglycemia in Older Adults: Clinical Considerations. *Diabetes Care*, 40(4), 444–452. <https://doi.org/10.2337/DC16-1732>
- Lin, L. K., Sun, Y., Heng, B. H., Kwang Chew, D. E., & Chong, P. N. (2017). Medication adherence and glycemic control among newly diagnosed diabetes patients. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 5(1). <https://doi.org/10.1136/BMJDRC-2017-000429>
- Liu, X., Zeng, L., & Xu, W. (2018). Pharmacoeconomic evaluation of glimepirid combined with other drugs in the treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(3), 1103–1107.
- Perkeni. (2021). *Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia*. PB Perkeni: Jakarta.
- Pribadi, F. & Permana, I. (2018). Analysis of the Cost-Effectiveness of Antidiabetic Drugs among Self Paid Participant of the Indonesia National Security Service (NSS) with Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Med. Public Health*, 8(3), 108-111. <https://doi.org/10.5530/ijmedph.2018.3.23>.
- Putra, S., Udayani, NMW., Meriyani, H. (2021). Analisis Efektivitas Biaya Penggunaan Terapi Insulin Dan Insulin Kombinasi Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe Ii Analisis Efektivitas Biaya Penggunaan Terapi Insulin Dan Insulin Kombinasi Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe Ii Rawat Jalan Di Rsup Sanglah A. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), 97-103. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i2.907>
- RSUD Sumedang. (2022). <https://rsud.sumedangkab.go.id/>
- Samsudin, Y. B., Mccarthy, J. F., Napitupulu, L., Dewi, R., Hadihardjono, D. N., Rouw, A., Melati, K., Bellotti, W., Tanoto, R., Campbell, S. J., Ariesta, D. L., Setiawan, M. H., Khomsan, A., & Ickowitz, A. (2021). *Mulia Nurhasan Linking food, nutrition and the environment in Indonesia A perspective on sustainable food systems 2 Linking food, nutrition and the environment in Indonesia A perspective on sustainable food systems*. <https://doi.org/10.17528/cifor/008070>
- Shaquilla, RV. (2020). Asuhan Keperawatan Keluarga dengan Hipertensi di Wilayah Kerja Puskesmas Andalas Kota Padang. *Karya Tulis Ilmiah*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Padang: Padang. 4
- Tramunt, B., Smati, S., Grandgeorge, N., Lenfant, F., Arnal, J. F., Montagner, A., & Gourdy, P. (2020). Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia*, 63(3), 453–461. <https://doi.org/10.1007/S00125-019-05040-3/FIGURES/2>

- Wafa, W., Septini, R., & Sauriasari, R. (2021). Comparison of Metformin-sulfonylurea and Metformin-acarbose Combination Therapies on Glycemic Outcomes: A Retrospective Cohort Study. *Current Diabetes Reviews*, 18(7). <https://doi.org/10.2174/1573399818666211103161917>
- WHO Library. (2016). Global Report on Diabetes. *Isbn*, 978, 6–86. Available at <http://www.who.int/about/licensing/>
- Yang, H. K., Lee, S. H., Shin, J., Choi, Y. H., Ahn, Y. B., Lee, B. W., Rhee, E. J., Min, K. W., & Yoon, K. H. (2019). Acarbose Add-on Therapy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus with Metformin and Sitagliptin Failure: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Diabetes & Metabolism Journal*, 43(3), 287. <https://doi.org/10.4093/DMJ.2018.0054>
- Yen, F. S., Wei, J. C. C., Lin, M. C., Hsu, C. C., & Hwu, C. M. (2021). Long-term outcomes of adding alpha-glucosidase inhibitors in insulin-treated patients with type 2 diabetes. *BMC Endocrine Disorders*, 21, 25. <https://doi.org/10.1186/S12902-021-00690-0>
- Yuswantina, R., & Dyahariesti, N. (2017). Analisis Efektivitas Biaya Penggunaan Antidiabetes Oral Tunggal Dan Kombinasi Pada Pasien Bpjs Penderita Diabetes Millitus Tipe 2 Di Rumah Sakit X. *Media Farmasi Indonesia*, 13(1).



The effect of counseling on perception, religiosity, adherence, and quality of life of diabetes mellitus patients

Bella Fevi Aristia^{1*}, Akrom^{2,3}, Ginandjar Zukhruf Saputri⁴, Mustofa⁵

¹Department of Community Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

²Department of Epidemiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

³Ahmad Dahlan Drug Information and Research Center, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

⁴Department of Clinical and Community Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

⁵Pharmacology and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: bellafeviaristia@gmail.com

Abstract

Background: Diabetes mellitus is a chronic disease that can overcome complications and decrease quality of life.

Objective: The purpose of this study was to determine the effect of counseling religious nuance and pill box on perception, religiosity, quality of life, and adherence in DM patients who get oral antidiabetic in the outpatient of Jetis 1 Primary Health Center, Bantul Regency.

Method: This type of research is quasi-experimental, utilizing a pretest and posttest design with a control group. Recruitment of subjects was done by purposive sampling based on exclusion and inclusion criteria with a simple randomization of allocations in order to obtain a sample of 71 people, divided into control (n = 36) and treatment (n = 35) groups. The instrument to assess the success of counseling is the perception questionnaire (B-IPQ), religiosity, and quality of life (EQ5D-3L) that has been validated, while to measure compliance, it is calculated using the pill count method. Statistical analysis using chi square, t test, independent t-test, Wilcoxon test, and Mann-Whitney test with 95% confidence level.

Results: The results showed that the treatment group after being given counseling and pill boxes had a better perception (31.37±6.44) than the control group (34.47±7.16) (p<0,05). The treatment group religiosity score was higher (64.28±3.44) compared to the control group (62.17±4.64), p<0.05. The adherence value of treatment group (96.28±10.32) is greater than that of the control group (88.37±12.39), (p<0.05). The majority of patients are still able to walk, perform self-care independently, and carry out daily activities. The highest mean quality of life score was in the treatment group (0.95±0,08) with a mean VAS (77.40±6.31).

Conclusion: Based on the results of this study, it can be concluded that there is an influence of giving counseling religious nuance and pill box, which is marked by an increase in perception, religiosity, quality of life, and adherence.

Keywords: Diabetes mellitus, perception, religiosity, adherence, quality of life

1. Introduction

Indonesia ranks 6th in the top 10 countries with the highest prevalence of Diabetes Mellitus (DM) in adults aged 20-79 (IDF, 2017). The prevalence of DM in Indonesia continues to increase from 6.9% in 2013 to 10.9% in 2018. Yogyakarta is among the top 3 provinces with the highest prevalence of DM, after DKI Jakarta and East Kalimantan (Kemenkes, 2018). DM can lead to long-term complications if it is not properly treated, thereby increasing mortality and morbidity worldwide (Chawla *et al.*, 2016). DM can also affect the psychological state of the sufferers. Psychological disorders that occur can be in the form of depression, anxiety, and excessive worry (Kiani and Hesabi, 2016). Someone who suffers from DM in general will experience a decrease in quality of life (Kiadaliri

et al., 2013). Several factors are known to affect the quality of life, such as knowledge, perception, adherence, age, sex, education, socioeconomics, duration of DM, and DM complications (Yusra, 2010; Mohamed *et al.*, 2016). Negative perceptions of disease can cause feelings, so that it will trigger a person to be disobedient in undergoing treatment, on the contrary positive perceptions will make someone excited, so they can undergo treatment regularly (Ibrahim *et al.*, 2011). Low adherence causes blood glucose levels to be uncontrolled, thereby increasing the risk of complications and decreasing the patient's quality of life (Zioga *et al.*, 2016).

Diabetes Mellitus management requires patient commitment regarding adherence to medication regimens, diet, nutrition selection, physical activity, and weight and stress management (American Diabetic Association, 2019). Adherence is an important factor in the outcome of DM therapy. Patients with high adherence to treatment have a better quality of life (Morello *et al.*, 2011). One effort to increase adherence is by providing counseling and pill boxes. Research Nadia *et al.* (2017) showed that there was an effect of giving pharmacist counseling on adherence and therapeutic outcomes ($p < 0.05$). In this research, counseling is done by integrating religious elements, considering that religiosity is a fundamental belief that can influence one's ideas, values and way of life (How *et al.*, 2011). Religious elements in the counseling given refer to the essence that healing originates from Allah SWT, striving by obedience in undergoing treatment, praying to Allah SWT to ask for healing, facing life difficulties with patience, and following the advice of the Prophets and Messengers in applying the health of life, such as doing regular exercise and maintaining eating patterns so as not to overeat and drink, and maintaining friendships with others so that life becomes more peaceful and calmer (Sari, 2018).

Giving the pill box in this study aims to help patients choose and manage drugs according to the rules of use every day for 1 month, so that with these assistive devices it is hoped that patients will no longer forget to take DM drugs. The success of the pill box to improve adherence has been investigated by Sannulia *et al.* (2016) where the results showed that there was a significant difference between the pill box and medication reminder chart in improving adherence ($p < 0.05$) and reducing diastolic systolic blood pressure ($p < 0.05$). Based on this background, a study was conducted with the aim of finding out the effect of counseling-based religiosity and pill box on perception, religiosity, adherence, and quality of life in DM patients at primary outpatient service of a health center.

2. Method

2.1 Sample preparation

This study was quasi-experimental research with pretest-posttest control group design. Prospective data collection was held on December-March 2019 at Jetis 1 Health Center Bantul Yogyakarta. The research samples were DM patients who were examined at Jetis 1 Bantul Health Center with a number of inclusion criteria: patients who were >20 years old, received at least one oral diabetes drug, and were willing to become research respondents. The total respondents in the study were 71 patients. Sociodemographic data retrieval of patients including gender, age, educational status, BMI, DM history, disease complications, smoking status, and habits were carried out using data collection.

The perception assessment used the BIPQ questionnaire, which was validated. Patients who had a positive perception got ≤ 34 scores and patients who were a negative perception got > 34 scores. Assessment of religiosity using a religiosity questionnaire developed from Kartikasari (2014) research. The category of religiosity is divided into 5: very low with a score of 19-28.5, low with a score of 28.5-38, medium with a score of 38-57, high with a score of 57-66.5, and very high with a score of 66.5-76. The patient received a pill box that had been modified by the researcher. Assessment of compliance using the pill count method. Pill count is counting the remaining medication the patient has received over a certain period of time. Patients are adherent with score ≥ 80 and non-adherent with score < 80 . The patient's quality of life was assessed using the validated EQ5D-3L questionnaire. Patients with good quality of life with a total score of 5 and not good with a total score of < 5 .

2.2 Method and data analysis

This research was approved by the Ethics Committee of Ahmad Dahlan University number 011802025. All patients were asked to fill out an interview-based questionnaire during their visit to the clinic for a pretest assessment, and education was carried out for the treatment group only, in the following month an interview was conducted by visiting the patient's home for a posttest assessment. For participants who had difficulty in understanding or could not read the questionnaire, trained interviewers were available to read and explain it to them. The patient's answer data on the questionnaire was then grouped and analyzed using SPSS 21. The non-parametric Wilcoxon test was used to compare the paired data (pre-posttest) in each group. The significance value was $p < 0.05$.

3. Result and discussion

The demographic characteristics of patients are presented in Table 1. A total of 71 patients who met the inclusion criteria were divided into two groups. The control group consisted of 36 patients who received counseling from pharmacists at the primary healthcare, and the treatment group consisted of 35 patients who received religious counseling and pill box from the researcher.

Table 1. Patients' characteristics

No	Characteristics subject	Control	Treatment
		n=36 (%)	n=35 (%)
1.	Gender		
	Male	12 (33.3)	13 (37.1)
	Female	24 (66.7)	22 (62.9)
2.	Age		
	≤50 year	4 (11.1)	16 (45.7)
	>50 year	32 (88.9)	19 (54.3)
3.	Education level		
	Basic education	28 (77.8)	28 (80.0)
	Further education	8 (22.2)	7 (20.0)
4.	BMI		
	Underweight <18.5	3 (8.3)	4(11.4)
	Normal 18.5 – 22.9	15 (47.1)	14 (40.0)
	Overweight 23 – 24.9	18 (50.0)	17 (48.6)
5.	History of DM		
	≤5 year	16 (44.4)	17 (48.6)
	>5 year	20 (55.6)	18 (51.4)
6.	Complication		
	Yes	19 (52.8)	18 (51.4)
	No	17 (47.2)	17 (48.6)
7.	Smoking habit		
	Yes	4 (11.1)	5 (14.3)
	No	32 (88.9)	30 (85.7)
8.	Exercise habit (3 times a week)		
	Yes	16 (44.4)	20 (57.1)
	No	20 (55.6)	15 (42.9)

In the control group, 66.7% of the patients were female, in the treatment group, 62.9% of the patients were female. This result is in line with previous research in Indonesia which stated that the majority of DM patients were women. Female gender and diabetes are associated with more obesity in women than men (Rasdianah, 2016; Rafiah & Perwitasari, 2017). Age in the control and treatment groups was dominated by age >50 years, respectively 88.9% and 54.3% of patients. Increasing age is related to insulin resistance and a decrease in beta cell function which causes changes and decreases in insulin sensitivity, so that blood sugar levels will increase with age (Dai *et al.*, 2012).

The majority of DM patients in this study had basic education levels (elementary and junior high schools) with a percentage of 77.8% of control group patients and 80.0% of treatment group patients. Another study conducted by Palimbunga *et al.* (2017) showed that 77.2% of T2DM patients

had low education and 22.8% had high education. Statistical analysis result showed that odd ratio 0.64 (95%, CI:0.27-1.47; $p = 0.40$) which means that the level of education has a risk of 0.64 times to the incidence of T2DM and there is no significant relationship between the level of education and the incidence of T2DM. The majority of patients in both groups were overweight with a BMI value of 23-24.9 (50.0% of control group patients and 48.6% of treatment group patients). Overweight patients have a risk of developing T2DM of 1.5 times, while patients who are classified as obese class 1 have a risk of 2.5 times and obese patients' class 2 have a risk of 3.6 times (Ganz *et al.*, 2014).

Based on the history of suffering from DM and complications, it is known that most patients have suffered from DM > 5 years and have complications. The duration of DM is one of the factors that can affect the patient's quality of life, in addition to physical activity, frequency of blood glucose checks, complications, wrong diet and depression (Jing *et al.*, 2018). The patient's habits such as smoking showed that most patients did not smoke (88.9% of control group patients and 85.7% of treatment group patients). According to research by Sari *et al.* (2018) diabetes patients who smoked had higher GDP, GD2PP, and HbA1C values of 23.64 mg/dL ($p=0.325$), 58.00 mg/dL ($p=0.016$) and 0.39% ($p= 0.412$) than diabetic patients who do not smoke. Exercise habits done 3x in one week, showed that 57.1% of patients in the treatment group had the habit of exercising done 3x in one week, and 55.6% of patients in the control group did not have this habit. Physical activity such as exercise can increase insulin sensitivity. The systematic review conducted by Umpierre *et al.* (2013) showed that structured exercise performed with a duration of more than 150 minutes/week was associated with a decrease in HbA1C of 0.89%.

Table 2 presents the perception scores measured using the BIPQ questionnaire. The average pretest score of DM patients' perceptions in the control group was 36.28 ± 7.23 and the posttest average was 34.47 ± 7.16 ($p = 0.06$). The average pretest of the treatment group was 36.60 ± 7.38 and the average posttest was 31.37 ± 6.44 ($p = 0.00$).

Table 2. The effect of counseling on the total perception score of BIPQ

Group	Pretest (Mean±SD)	Posttest (Mean±SD)	p-value
Control	36.28±7.23	34.47±7.16	0.06
Treatment	36.60±7.38	31.37±6.44	0.00*

Note : Wicoxon test; (*) significance value $p < 0.05$

These results indicate that counseling with religious nuances and pill boxes has a positive influence on the perception of diabetic patients. Every patient who suffers from a chronic disease will form a perception related to his illness. The higher the perception score indicates a more serious condition of the disease, so that a negative perception of the patient can be formed. Patients who have

a negative perception will think that they are not able to manage the disease they are suffering, so that it has an impact on decreasing the quality of life. The lower perception score indicates that the patient has a positive perception, because the patient thinks that he is in good condition so that it will improve his quality of life (Rafiah & Perwitasari, 2017).

Table 3 shows the religiosity score measured using a questionnaire designed by Kartikasari (2014). All patients in the research group are Muslim, so that the religious nuances given by researchers during counseling refer to Islamic teachings, for example increasing patient awareness that illness is a test from Allah SWT, and as an expiration of sins, for that humans are expected to be patient and persevere in facing trials. In addition, humans must also surrender, remembering that healing comes only from Allah SWT. The form of effort that humans can do is to diligently undergo treatment, because Allah SWT does not bring disease except also brings medicine, except for one, old disease. Another form of endeavor is to apply the prophet's healthy lifestyle. Religiosity in this study aims to provide a positive influence from the religious side on the success of the therapy being undertaken by the patient.

The mean value of pretest religiosity control group was 60.39 ± 3.46 and posttest 60.75 ± 3.02 ($p = 0.58$). The mean value of the pretest religiosity of the treatment group was 62.17 ± 4.643 and the posttest was 64.28 ± 3.44 ($p = 0.00$). Research related to the influence of religiosity and DM was also conducted by How *et al.* (2011) involving 212 patients. The results of the study stated that religiosity has a correlation with GDP and HbA1C, with a negative correlation direction, each of the correlation values ($r = -0.15$, $p = 0.041$) and ($r = -0.34$, $p = 0.007$).

Table 3. The effect of counseling and pill boxes on total religiosity score

Group	Pretest (Mean \pm SD)	Posttest (Mean \pm SD)	p-value
Control	60.39 \pm 3.46	60.75 \pm 3.02	0.58
Treatment	62.17 \pm 4.64	64.28 \pm 3.44	0.00*

Note : Wicoxon test; (*) significance value $p < 0.05$

According to research Yuniarti *et al.* (2013) religiosity has a relationship with the incidence of stress triggered by low self-acceptance, with a negative correlation direction ($r = -0.69$; $p < 0.05$). These results indicate that the higher the value of religiosity, the lower the incidence of stress. According to research conducted by Malone & Dadswel (2018), it is stated that religion, spirituality, and/or belief have an important role in the daily life of older patients, because they are used as a source of strength and hope in the midst of the difficult times they are experiencing.

In this study, patients in the treatment group received a pill box. Table 4 shows the adherence score measured using the pill count method.

Table 4. The effect of counseling and pill boxes on compliance score

Group	Pretest (Mean±SD)	Posttest (Mean±SD)	p-value
Control	83.33 ±18.59	88.37 ±12.39	0.20
Treatment	90.04 ±12.09	96.28 ±10.32	0.02*

Note : Wicoxon test; (*) significance value $p < 0.05$ The mean value of the control group's pretest adherence was 83.33 ± 18.59 , the posttest value was 88.37 ± 12.39 ($p = 0.20$). In the treatment group the mean score of the pretest compliance was 90.04 ± 12.09 and the post test was 96.28 ± 10.32 ($p = 0.02$). Counseling interventions with religious nuances and pill boxes have a positive impact on drug adherence. Giving pill boxes aims to make it easier for patients to remember when to take drugs and prevent the risk of losing drugs due to the absence of a place or drug storage box. Research using tools to improve compliance has been conducted by Susanto *et al.* (2019). The tool used is a digital pill box reminder application. This tool is proven to be able to increase adherence in chronic disease patients who have health insurance from the government. Research using a digital pill box reminder application was also carried out by Agustianuri (2015) on DM patients, the results stated that patient adherence after receiving the intervention was higher (52.63%), compared to before receiving the intervention (5.27%). Research Nadia *et al.* (2017) showed that the counseling provided by the pharmacy had an effect on the level of adherence to drug use and therapeutic outcomes in T2DM patients in primary health care, and there was also a significant relationship between age and level of adherence ($p < 0.05$). Adherence is crucial to the success of treatment therapy. The success of therapy will not be achieved optimally if there is no awareness from the patient to adhere to the treatment (Ghembaza *et al.*, 2014). Quality of life assessment was measured using the EQ5D-VAS questionnaire which is presented in tables 5 and 6.

Table 5. The effect of counseling and pill boxes on the total quality of life score EQ5D

Group	Pretest (Mean±SD)	Posttest (Mean±SD)	p-value
Control	0.94±0.09	0.91±0.09	0.09
Treatment	0.92±0.09	0.95±0.08	0.00*

Note : Wicoxon test; (*) significance value $p < 0.05$

Quality of life is measured using an index value where if the average value is close to 1,000, the quality of life is getting better (Purba *et al.*, 2017). Counseling and pill boxes have a significant effect on the quality of life of DM patients. The effect of counseling in improving the quality of life has been observed by Sriram *et al.* (2016), the results stated that if pharmaceutical interventions given to outpatient DM patients were able to improve the patient's quality of life, this was also reinforced by another study conducted by Shareef *et al.* (2016) where counseling to improve medication

adherence will help in optimizing blood sugar levels and improving the quality of life of DM patients. The VAS (Visual Analog Scales) measurement tool can be used to measure the best imaginable health state (the best imaginable health status), and the worst imaginable health state (the worst imaginable health status), with a rating scale of 0-100.

Table 6. The effect of counseling and pill box on the mean score of EQVAS

Group	Pretest (Mean±SD)	Posttest (Mean±SD)	p-value
Control	74.28 ± 7.88	74.69 ± 7.88	0,50
Treatment	75.66 ± 7.87	77.40 ± 6.31	0,04*

Note : Wicoxon test; (*) significance value $p < 0.05$

The mean value of VAS for the control group, at the pretest was 74.28 ± 7.88 , and the posttest was 74.69 ± 7.88 ($p = 0.50$). In the treatment group the mean value of VAS at pretest was 75.66 ± 7.87 , while at posttest the value increased to 77.40 ± 6.31 ($p = 0.04$). According to Szende *et al.* (2014), the results of research in 15 countries regarding the VAS value in normal people, for Asian people are 77.71. The quality of life of DM patients is getting better after giving interventions in the form of counseling with religious nuances and pill boxes. The many factors that affect the quality of life require patients to have good blood sugar control, making it possible to maintain a good quality of life and prevent the severity of the disease (Prajapati *et al.*, 2018).

4. Conclusion

Giving counseling with religious nuances and pill box can increase the score of perception, religiosity, compliance and quality of life of outpatients with diabetes mellitus in primary health centers. Interventions provided by pharmacy must be more in-depth in order to increase the success of chronic disease therapy.

Reference

- Agustianuri, N. (2015). Perubahan Kepatuhan Konsumsi Obat dan Kadar Gula Darah Setelah Penggunaan Aplikasi Digital Pillbox Reminder Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Rawat Jalan Di Depo Farmasi BPJS RSUD Ulin Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 34-42.
- American Diabetic Association (2019). Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes 2019. *Diabetes Care*, 42(1), 90-102.
- Chawla, A., Chawla, R., Jaggi, S. (2016). Microvascular and Macrovascular Complication in Diabetes Mellitus: Distinct or Continuum?. *Indian J Endocrinol Metabolism*, 20(4), 546-551.
- Dai, D.F., Rabinovitch, P.S., Ungvari, Z. (2012). Mitochondria and Cardiovascular Aging. *Circ Res*, 110, 1109-1124.
- Ganz, M.L., Wintfeld, N., Li, Q., Alas, V., Langer, J., Hammer, M. (2014). The Association of Body Mass Index with The Risk of Type 2 Diabetes: A Case Control Study Nested in an Electronic Health Records System in The Unites States. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 6, 50. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-6-50>

- Ghembaza MA, Senoussaoui Y, Tani MK, Meguenni K. (2014). Impact of patient knowledge of hypertension complications on adherence to antihypertensive therapy. *Curr Hypertens Rev*, 10(1), 41-8. <https://doi.org/10.2174/15734021100114111160653>
- How, C.B., Ming, K., Chin, C.Y. (2011). Does Religious Affiliation Influence Glycaemic Control in Primary Care Patients With Type 2 Diabetes Mellitus?. *Mental Health in Family Medicine*, 8, 21-8.
- Ibrahim, N., Desa, A., & Chiew-Tong, N.K. (2011). Illnes Perception and Depression inPatients with End-Stage Renal Disease on Chronic Haemodialysis. *Medwell Journal*, 6(3), 221-226.
- International Diabetes Federation (IDF). (2017). Eighth edition 2017. In IDF Diabetes Atlas, 8th edition.
- Jing, Xiyue., Chen, J., Dong, Y., Han, Doulan., Zhao, H., Wang, Xuying., Fei, Gao., Li, Changping., Cui, Zhuang., Ma, Jun. (2018). Related factors of quality of life of type 2 diabetes patients: A systematic review and meta-analysis. *Health Qual Life Outcomes*, 16(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12955-018-1021-9>
- Kartikasari, N.D. (2014). Hubungan antara Religiusitas dengan Kesejahteraan Psikologi pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Tesis*, Fakultas Psikologi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Kemenkes (2018). *Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2018*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Kiadaliri, A.A., Najaf, B., dan Mirmalek-Sani, M. (2013). Quality of life in people with diabetes: a systemic review of studies in Iran, *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 12(54), 1-10.
- Kiani, F., & Hesabi, N. (2016). The Relationship Between the Religious Beliefs of the Diabetic Patients and Depression in a Diabetes Clinic in Iran. *J Relig Health*, 56(4), 1311-1316. <https://doi.org/10.1007/s10943-016-0222-y>
- Malone J., & Dadswell A. (2018). The Role of Religion, Spirituality and/or Belief in Positive Ageing for Older Adults. *Geriatrics*, 3(2): 28.
- Mohamed, R.A.P., Ibrahim, N., Budin, S.B., Omar, A.M., Kamaruddin, N.A., and Ismail, R. (2016). Inter-Relationship of Illness Perception, Personality And Quality Of Life Among Type 2 Diabetes Patients: A Cross Sectional Survey, *Soc Sci*, 11(2), 234-241.
- Morello, C.M., Chynoweth, M., Kim, H., Singh, R.F., and Hirsch, J.D. (2011). Strategies to Improve Medication Adherence Reported by Diabetes Patients and Caregivers: Result of a Taking Control of Your Diabetes Survey. *Annals of Pharmacotherapy*, 45(2), 145-153.
- Nadia, H., Murti, A.T., Chairun, W. (2017). Pengaruh Konseling Farmasis Terhadap Kepatuhan Penggunaan Obat Serta Gula Darah Puasa di Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 di Puskesmas, *Tesis*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Palimbunga, T.M., Ratag, B.T., Wulan. P. J. Kaunang. (2017). Faktor-faktor yang berhubungan dengan kejadian diabetes Mellitus Tipe 2 di RSI Gmim Pancaran Kasih Manado. *Media Kesehatan*, 9(3).
- Prajapati, V.B., Blake, R., Acharya, L.D., Seshadri, S. (2018). Assessment of Quality of Life in Type II Diabetic Patient Using The Modified Diabetes Quality of Life (MDQOL)-17 Questionnaire, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53(4). <https://doi.org/10.1590/s2175-97902017000417144>
- Purba, F.D., Hunfeld, J.A.M., Iskandarsyah, A., Fitriana, T.S., Sadarjoen, S.S., Ramos-Goni, JM., Passchier, J., Busschbach, J.V. (2017). The Indonesian EQ5D5L Value Set. *Pharmacoeconomics*, 35(11), 1153-1165. <https://doi.org/10.1007/s40273-017-0538-9>
- Rafiah, N., and Perwitasari, D.A. (2017). Hubungan Persepsi Tentang Penyakit Dengan Kualitas Hidup Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Komplikasi Di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Media Farmasi*, 14(1), 103-118. <http://dx.doi.org/10.12928/mf.v14i1.9830>

- Rasdianah, N., Martodiharjo, S., Andayani, T.M., Hakim, L. (2016). Gambaran Kepatuhan Pengobatan Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 di Puskesmas Daerah Istimewa Yogyakarta, *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 5(4), 249-257.
- Sammulia, S.F., Rahmawati, F., Andayani, T.M. (2016). Perbandingan Pill Box dan Medication Chart Dalam Meningkatkan Kepatuhan dan Outcome Klinik Geriatri Kota Batam. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*, 6(4), 288-296. <https://doi.org/10.22146/jmpf.358>
- Sari, M.O. (2018). Pemberian Konseling Singkat Farmasi Modifikasi Berbasis Islami Dengan Pesan Singkat Peningkat Motivasi Terhadap Tingkat Perilaku, Hasil Terapi, dan Kualitas Hidup Pasien DM di Puskesmas Jetis 1 Bantul. *Tesis*. Fakultas Farmasi UAD, Yogyakarta.
- Shareef, J., Fernandez, J., Samaga, L. (2016). Impact of Pharmacist's Intervention on Improving Quality of Life in Patients with Diabetes Mellitus, *J Diabetes Metab Disord Control*, 3(4), 83-88. <https://doi.org/10.15406/jdmdc.2016.03.00076>
- Sriram, S., Damodharan, S., Arjun, AS., Latha, MA., Raghuram, N. (2016). Impact of pharmaceutical care activities on diabetic patients at a private corporate hospital. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 5(5), 66-74.
- Susanto, Y., Lailani, F., Alfian R., Rianto, L., Febrianti, DR., Aryzki, S., Prihandiwati, E., Khairunnisa, NS. (2019). Pemanfaatan Media Sosial Untuk Meningkatkan Kepatuhan Minum Obat Pasien Diabetes Melitus Rawat Jalan di RSUD Ulin Banjarmasin, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1), 88-89. <https://doi.org/10.36387/jiis.v4i1.286>
- Suwendar, Fudholi, A., Andayani, TM., Sastramihardja, HS. (2017). Evaluasi Kualitas Hidup dengan Kuesioner EQ-5D pada Pasien Kanker Serviks Rawat Inap Sebelum dan Setelah Kemoterapi. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 6(1), 1-10. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2017.6.1.1>
- Szende, A., Janssen, B., Cabases, J. (2014). *Self-Reported Perspective based An International Population Health: on EQ-5D*. Springer Dordrecht Heidelberg: New York London.
- Umpierre D., Ribeiro P.A., Schaan B.D., Ribeiro J.P. (2013). Volume of supervised exercise training impacts glycaemic control in patients with type 2 diabetes: a systematic review with meta-regression analysis. *Diabetologia*, 56(2), 242-251. <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2774-z>
- Yusra, A. (2010). Hubungan antara dukungan keluarga dengan kualitas hidup pasien diabetes melitus tipe 2 di poliklinik penyakit dalam Rumah Sakit Umum Pusat Fatmawati Jakarta. *Tesis*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta.
- Zioga, E., Kazakos, K., Dimopoulos, E., Koutras, C., Marmara, K., Marmara, E-E., Marmaras, A., Lavdaniti. (2016). Adherence And Quality Of Life In Patients With Type II Diabetes Mellitus In Northern Greece. *Mater Sosiomed*, 28(4), 258-262.
- Yuniarti, K.W., Dewi, C.P., Ningrum, R.P., Widiastuti, Asril, N.M. (2013). Illness Perception, Stress, Religiosity, Depression, Social Support, and Self-Management of Diabetes in Indonesia. *International Journal of Research Studies in Psychology*, 2(1), 25-41. <https://doi.org/10.5861/ijrsp.2012.185>



Knowledge and attitude improvement of teenagers through education on hazardous ingredients in cosmetics in Kalimanggis, Morangan, Sleman

Peningkatan pengetahuan dan sikap remaja melalui edukasi bahan berbahaya dalam kosmetika di Dusun Kalimanggis, Morangan, Sleman

Purwanto¹, Umu Azizah Munawaroh², Rahma Nur Aini², Amelia Handayani Burhan²,
Iramie Duma Kencana Irianto*²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

²Program Studi D3 Farmasi, Politeknik Kesehatan Bakti Setya Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: iramie.d.k.i@poltekkes-bsi.ac.id

Abstract

Background: From October to August 2022, BPOM Yogyakarta discovered cosmetic products containing hazardous ingredients, including clindamycin, mercury, betamethasone-17-valerate, clobetasol propionate, o-aminophenol, hydroquinone, arsenic, and retinoic acid. These harmful ingredients are found in cosmetic preparations such as face cream, lipstick, eyebrow pencil, foundation, nail color, masks, soap, lip balm, and eyeshadow.

Objective: This study aims to improve the knowledge and attitude of adolescents through education.

Method: This type of research is pre-experimental, with a one-group pretest-posttest design. Respondents were adolescents at Kalimanggis Morangan Hamlet who were given educational treatment in the form of direct counseling about hazardous ingredients in cosmetics. The instrument used is a questionnaire that has passed validation and reliability tests.

Results: The majority of respondents were in their teens (79.41%) with a high school/vocational school education level (52.94%) and, on average, had not worked (79.42%). A total of 89% of adolescents received their first education during this study, so the material provided was something new to them. Respondents' attitudes and knowledge increased after the counseling was carried out.

Conclusion: Direct counseling on hazardous ingredients in cosmetics significantly improved adolescents's knowledge. However, the education that was given only once did not significantly affect the attitude of adolescents.

Keywords: Attitude, harmful cosmetics, knowledge, Sleman

Intisari

Latar belakang: Dalam bulan Oktober hingga Agustus 2022, BPOM Yogyakarta masih menemukan produk kosmetika yang mengandung bahan berbahaya dalam kosmetika. Bahan berbahaya tersebut diantaranya klindamisin, merkuri, betametason-17-valerate, klobetasol propionat, o-aminofenol, hidrokinon, arsen dan asam retinoat. Bahan berbahaya tersebut terdapat pada sediaan kosmetika berupa krim wajah, *lipstick*, pensil alis, *foundation*, pewarna kuku, masker, sabun, *lipbalm* dan *eyeshadow*.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan pengetahuan dan sikap remaja melalui edukasi.

Metode: Jenis penelitian ini adalah *pre eksperimental* dengan rancangan *one group pretest posttest design*. Responden adalah remaja Dusun Kalimanggis Morangan yang diberi perlakuan edukasi berupa penyuluhan langsung tentang bahan berbahaya dalam kosmetika. Instrumen yang digunakan adalah kuesioner yang telah lolos uji validasi dan realibilitas.

Hasil: Mayoritas responden berusia belasan tahun (79,41%) dengan tingkat pendidikan SMA/SMK (52,94%) dan rata-rata belum bekerja (79,42%). Sebanyak 87% remaja mendapatkan edukasi pertama saat penelitian ini sehingga materi yang diberikan merupakan sesuatu yang baru diketahui. Sikap dan pengetahuan responden meningkat setelah dilakukannya penyuluhan.

Kesimpulan: Penyuluhan langsung tentang bahan berbahaya dalam kosmetika secara signifikan mampu meningkatkan pengetahuan remaja. Namun edukasi yang diberikan hanya satu waktu tersebut tidak berpengaruh secara signifikan terhadap sikap remaja.

Kata kunci: Kosmetika berbahaya, pengetahuan, sikap, Sleman

1. Pendahuluan

Kosmetika yang mencakup sektor industri farmasi, kimia dan obat tradisional mengalami pertumbuhan hingga 9,61% pada tahun 2021. Hasil tersebut berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS). Pengambilan data oleh BPOM sejak tahun 2021 hingga Juli 2022 diperoleh bahwa industri kosmetika mengalami kenaikan jumlah perusahaan hingga 20,6%. Peningkatan tersebut didominasi oleh UKM sebesar 83%. Peningkatan ini dikarenakan pola konsumtif masyarakat Indonesia terhadap kosmetika meningkat (Febrinastri, 2022).

Berdasarkan pemeriksaan kosmetika pada 21 – 29 Juli 2022 oleh Balai Besar POM di Banjarmasin, diperoleh temuan kosmetika ilegal dan mengandung bahan berbahaya sebanyak 595 kemasan. Temuan tersebut terdiri atas 84,70% kosmetika tanpa izin edar (TIE), 10,76% produk kadaluwarsa, dan 4,54% mengandung obat keras. Jenis temuan produk kosmetika TIE berupa krim wajah, *lipstick*, pensil alis, *foundation*, pewarna kuku, masker dan sabun (BPOM RI, 2022^d). Temuan kosmetika berbahaya tidak hanya ditemukan di Banjarmasin, tapi juga di Kota Ternate, Kabupaten Halmahera Utara dan Kabupaten Halmahera Timur. Berdasarkan *press release* yang dilakukan pada 02 Agustus 2022 di tiga kota/kabupaten tersebut, Balai POM Sofifi menemukan kosmetika TIE dan/atau mengandung bahan berbahaya sebanyak 499 produk (BPOM RI, 2022^c).

Di Yogyakarta, BPOM telah menemukan 16 produk kosmetika dengan jumlah lebih dari 1 juta *pieces* mengandung bahan dilarang atau berbahaya pada pemeriksaan selama bulan Oktober hingga Agustus 2022. Bahan pewarna terlarang yang ditemukan antara lain pewarna merah K3 dan K10. Jenis kosmetika yang ditemukan meliputi *blush on*, pewarna kuku, *lipbalm*, *eyeshadow*, dan *lipstick* (Padmaratri, 2022). Selain kedua pewarna tersebut, BPOM juga menemukan produk kosmetika yang mengandung sudan III dan sudan VI (Anggraeni *et al.*, 2018; BPOM RI, 2022^b). Produk kosmetika import yang ditarik dari peredaran pada 04 Oktober 2022 sebanyak 46 produk (BPOM RI, 2022^a). Produk tersebut ditarik karena termasuk produk palsu dan mengandung bahan berbahaya seperti klindamisin, merkuri, pewarna merah K3, betametason 17 (*valerate*), klobetasol propionat, *O*-aminofenol, hidrokinon, serta cemaran mikroba (BPOM RI, 2020).

Klindamisin merupakan antibiotik spektrum luas dan secara topikal digunakan dalam pengobatan jerawat yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Powale *et al.*, 2022), terutama bakteri penyebab utama jerawat yaitu *Propionibacterium acnes*. Penggunaan jangka panjang antibiotik ini sering menimbulkan resistensi sehingga perlu kekuatan antibakteri yang lebih besar untuk menangani infeksi di masa mendatang (Madelina & Sulistiyangsih, 2018; Waranuch *et al.*, 2019).

Sementara itu, Sende *et al.*, (2020) melaporkan bahwa banyak kosmetika pemutih yang tidak memenuhi syarat karena mengandung merkuri, arsen, dan kortikosteroid. Merkuri dalam bentuk garam mampu menghambat pembentukan melanin sehingga menjadikan kulit lebih cerah (Khan & Alam, 2019). Akumulasi merkuri di dalam tubuh dapat mengakibatkan efek samping diantaranya pusing, migrain, lemas, sakit kepala, cemas, insomnia, kehilangan memori jangka pendek hingga gangguan ginjal (Naqvi *et al.*, 2022), dan efek karsinogenik dan teratogenik yang sangat berbahaya.

Selain merkuri, hidrokinon, asam retinoat (tretinoin) dan kortikosteroid sering ditemukan pada krim pencerah kulit yang ilegal (Maggadani *et al.*, 2019). Bahan ini dapat mencerahkan kulit dengan cara mengurangi jumlah produksi melanosit (Ozbey & Okur, 2020). Hidrokinon dilarang karena dapat menyebabkan iritasi kulit (Hukmas, 2016), sedangkan asam retinoat dapat menyebabkan kulit terasa pedih, panas, kemerahan, pengelupasan kulit, hingga teratogenik (Fauzia, 2018). Sementara itu, efek samping yang ditimbulkan kortikosteroid misalnya rasa terbakar, menyengat, pruritus, fotosensitifitas, eritema *rebound* yang parah, gangguan pigmentasi kulit, dan dermatitis perioral (Wahyudi & Nurhayati, 2022). Penggunaan obat topikal ini dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan vertigo, mual, kelelahan, insomnia, dan kelelahan (Aliyev & Finsterer, 2020). Klobetasol propionat merupakan jenis kortikosteroid yang dapat mengatasi kemerahan dan gatal pada kulit, pencerah kulit, anti kerutan pada kulit, eksim serta psoriasis (Jacob *et al.*, 2020).

Produk kosmetika yang mengandung bahan berbahaya sering kali ditemui pada toko, klinik kecantikan, pasar dan situs penjualan *online* (Sende *et al.*, 2020). Intensitas penggunaan instagram didominasi oleh remaja. Masa remaja merupakan masa transisi dalam kehidupan seseorang, yakni pada kelompok usia 10 sampai 19 tahun (Saputro, 2017). Pada fase ini, remaja senang bereksplorasi dalam berbagai hal, termasuk dalam penggunaan kosmetika untuk memperbaiki penampilan (Lestari & Widayati, 2022). Berdasarkan hasil penelitian Apriliana dan Utomo (2019), intensitas melihat iklan penjualan kosmetika pada instagram berpengaruh terhadap tingkat pengetahuan dan perilaku konsumtif remaja. Semakin lama dan sering seseorang terpapar iklan dari media maka perhatiannya terhadap hal tersebut akan semakin besar. Hal ini menyebabkan informasi akan tersimpan pada memori masing-masing individu dengan lebih kuat dan nantinya akan mempengaruhi keputusan dalam mengonsumsi kosmetika tersebut.

Kelompok umur remaja merupakan target utama dari para produsen kosmetika. Pola konsumsi dapat berkembang menjadi sebuah pola konsumtif terbentuk pada usia remaja (Fadillah, 2018). Remaja perlu waspada dalam memilih kosmetika dengan

memperhatikan keamanan, manfaat, dan mutu produk. Hal ini penting dilakukan karena kosmetika akan digunakan rutin dan dalam waktu yang lama. Dari alasan-alasan di atas, responden yang digunakan dalam penelitian ini adalah remaja. Edukasi berupa penyuluhan langsung dapat menjadi solusi dalam meningkatkan pengetahuan remaja tentang cara memilih kosmetika yang aman. Tingkat pengetahuan yang baik pada remaja dapat mempengaruhi sikap dan tindakan positif sehingga mencegah penggunaan bahan berbahaya dalam kosmetika (Bratha & Sukmawati, 2022).

Penelitian ini dilakukan terhadap remaja di Dusun Kalimanggis Morangan, Sindumartani, Ngemplak, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Materi yang diberikan berupa bahan berbahaya dalam kosmetika serta cara mengecek keamanan kosmetika. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui peningkatan pengetahuan dan sikap remaja di Dusun Kalimanggis Morangan melalui edukasi tentang bahan berbahaya dalam kosmetika. Penelitian mengenai pemberian edukasi melalui penyuluhan kepada remaja tentang kosmetika sudah cukup banyak dilakukan. Perbedaan dari penelitian-penelitian tersebut umumnya terletak pada rentang usia remaja, lokasi, metode pemberian materi, dan latar belakang pendidikannya (Agustina *et al.*, 2020; Ambarwati *et al.*, 2022; Diningsih & Vera, 2020; Fajriah *et al.*, 2021; Indriaty *et al.*, 2018; Mariyani *et al.*, 2023; Mukti *et al.*, 2022; Supriningrum & Jubaidah, 2019). Kegiatan ini berpotensi keberlanjutan dan pengembangan yang cukup besar karena implementasinya yang mudah dan aplikatif serta bisa menguntungkan kedua belah pihak. Pembinaan ini diharapkan dapat melengkapi wawasan pengetahuan remaja dalam berbagai segi kehidupan keluarga.

2. Metode

2.1 Desain penelitian

Jenis penelitian ini adalah pre eksperimental dengan rancangan *one group pretest posttest design*. Penelitian ini menggunakan satu kelompok yang diberi perlakuan edukasi berupa penyuluhan langsung tentang bahan berbahaya dalam kosmetika. Rancangan penelitian ini tidak memiliki kelompok pembanding (kontrol) tetapi telah dilakukan observasi pertama (*pretest*) yang memungkinkan menguji perubahan-perubahan yang terjadi setelah adanya eksperimen. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor 5/Ka.Kom.Et/70/KE/IV/2023.

2.2 Populasi dan sampel

Populasi penelitian ini adalah kelompok pemuda yang berusia 10 – 24 tahun (kategori remaja) atau lebih dari 24 tahun tapi belum menikah. Berdasarkan data dari Kepala Dusun Kalimanggis Morangan, terdapat 160 orang remaja di dusun tersebut. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*, dengan kriteria inklusi remaja berusia 10-24 tahun atau belum menikah sedangkan kriteria eksklusi adalah jawaban kuisisioner responden yang tidak lengkap. Sampel pada penelitian ini adalah remaja di Dusun Kalimanggis Morangan, Sindumartani, Ngemplak, Sleman yang datang setelah diberi undangan langsung oleh peneliti. Perhitungan total minimal sampel menggunakan Rumus Slovin pada persamaan 1.

$$\begin{aligned} n &= \frac{N}{1+(Ne^2)} && 1) \\ &= \frac{160}{1+(160 \times 0,1^2)} \\ &= 61,5 \text{ responden} \approx 62 \text{ responden (jumlah responden minimal)} \end{aligned}$$

Cadangan:

$$= 62 + 10\%$$

$$= 68,2 \text{ responden} \approx 68 \text{ responden}$$

Keterangan:

n = total minimal sampel

N = total populasi

e = tingkat kesalahan (10%)

2.3 Instrumen penelitian

Instrumen pada penelitian ini adalah angket atau kuesioner untuk mengukur tingkat pengetahuan dan sikap responden. Kuesioner yang digunakan adalah hasil uji validasi dan realibilitas oleh peneliti. Alat edukasi yang digunakan adalah laptop dan proyektor. Bahan yang digunakan merupakan materi bahan berbahaya dalam kosmetika yang disusun pada *Microsoft Power Point*. Materi edukasi yang disampaikan meliputi dasar hukum bahan kosmetika, definisi kosmetika, bahan berbahaya yang dilarang dalam kosmetika, bahan berbahaya yang diijinkan dalam kosmetika, cara mengenali kosmetika yang mengandung bahan berbahaya serta penandaan kosmetika. Kuesioner terbagi atas dua bagian yakni kuesioner untuk mengukur tingkat pengetahuan dan untuk mengukur sikap responden.

Validasi kuisisioner dilakukan di Dusun Demangan Gunungan, Pleret, Bantul pada tanggal 14 Desember 2021. Uji validasi dan reabilitas kuisisioner dilakukan terhadap 30 orang remaja. Pengambilan data uji validasi dan reabilitas dilakukan satu kali yang terbagi dalam dua jenis kuisisioner yaitu tingkat pengetahuan dan sikap. Hanya pertanyaan/pernyataan yang valid yang digunakan untuk kuisisioner pengambilan data.

Prosedur statistik pada pengujian validasi terhadap jawaban responden dilakukan menggunakan korelasi Pearson, yaitu mengkorelasikan setiap pertanyaan dengan nilai total pertanyaan. Jika seluruh butir pertanyaan tersebut mempunyai nilai P (*Sig. 2-tailed*) < 0,05 maka kuesioner tersebut dinyatakan valid. Uji reabilitas dilakukan dengan menghitung nilai *Cronbach's Alpha*. Jika nilai *Cronbach's Alpha* > 0,60, maka kuesioner dapat dinyatakan reliabel atau konsisten.

2.4 Pengumpulan data

Observasi dilakukan pada tanggal 6-8 Oktober 2021 kepada 30 responden dan ditemukan sebanyak 63,3% remaja di Dusun Kalimanggis Morangan Sindumartani Ngemplak Sleman kurang mendapatkan edukasi tentang bahan kimia berbahaya dalam kosmetika, sedangkan sebanyak 90% responden pernah menggunakan kosmetika. Sebanyak 70% responden memeriksa komposisi kosmetika yang akan dibeli, namun ternyata sebanyak 63,3% tidak mengetahui nama serta fungsi bahan aktif dalam kosmetika yang digunakan. Responden memeriksa kosmetika ternyata hanya untuk mengecek ijin BPOM sebanyak 93,3%.

Edukasi dan pengambilan data dilakukan di Mushola Al-Ikhlas, Dusun Kalimanggis Morangan, Sindumartani, Ngemplak, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta pada 25 Desember 2021 pukul 19.30 sampai selesai. Waktu ini dipilih berdasarkan hasil musyawarah dengan kelompok pemuda di Dusun Kalimanggis Morangan, Sindumartani, Ngemplak, Sleman. Pengambilan data dilakukan dengan membagikan kuesioner yang telah tervalidasi kepada responden sebelum (*pretest*) dan setelah (*posttest*) edukasi diberikan. Pelaksanaan *pretest* dan *posttest* dilakukan pada hari yang sama saat pelaksanaan penyuluhan dan keduanya menggunakan kuesioner yang sama. Kuesioner untuk tingkat pengetahuan menggunakan pertanyaan dengan pilihan ganda sedangkan untuk sikap menggunakan pernyataan yang bersifat memihak/positif (*favorable*) dan dan tidak memihak/negatif (*unfavorable*) berdasarkan skala *likert*. Total estimasi waktu yang diperlukan dalam acara ini adalah 120 menit dengan rincian presensi 15 menit, pembukaan 10 menit, *pretest* 20 menit, edukasi 45 menit, *posttest* 20 menit, dan penutup 10 menit.

2.5 Analisis data

Kuesioner untuk mengukur tingkat pengetahuan dikoreksi dan diberikan penilaian pada setiap pertanyaan. Jawaban salah diberi nilai 0 dan untuk jawaban benar diberi nilai 1. Persentase pengetahuan dihitung menggunakan persamaan 2. Selanjutnya persentase pengetahuan dikategorikan menurut Arikunto (2021) yang meliputi tiga kategori tingkat

pengetahuan. Tingkat pengetahuan dikategorikan baik jika responden mampu menjawab dengan benar sebanyak 76 – 100%; cukup jika 56 – 75%; dan kurang jika 0 – 55%.

$$\text{Persentase pengetahuan} = \frac{\text{Jumlah jawaban benar}}{\text{Jumlah pertanyaan}} \times 100\% \quad 2)$$

Kuesioner untuk mengukur sikap responden dilakukan dengan penentuan skor untuk setiap kategori jawaban dapat dilakukan dengan cara (1) pernyataan yang bersifat memihak/positif (*favorable*) mendapatkan skor 0 untuk jawaban sangat tidak setuju (STS), tidak setuju (TS) diberi skor 1, ragu-ragu (RR) diberi skor 2, setuju (S) diberi skor 3, dan sangat setuju (SS) diberi skor 4; (2) pernyataan yang bersifat tidak memihak/negatif (*unfavorable*) mendapatkan skor 4 untuk jawaban STS, TS diberi skor 3, RR diberi skor 2, S diberi skor 1, dan SS diberi skor 0.

Tingkatan sikap responden dapat dikelompokkan sesuai dengan kategori sikap. Kategori sikap tersebut dapat diketahui dengan cara menghitung persentase nilai skor sikap responden. Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase skor sikap setiap aspek pernyataan pada persamaan 3. Persentase skor sikap selanjutnya dikategorikan menjadi sangat baik (80 – 100%); baik (60 – 79,99%); cukup (40 – 59,99%); kurang baik (20 – 39,99%); dan buruk (0 – 19,99%).

$$\text{Persentase skor sikap} = \frac{\text{Total nilai 68 responden dalam 1 aspek}}{5 \times 68 \times \text{jumlah pernyataan dalam 1 aspek}} \times 100 \% \quad 3)$$

Keterangan:

5 = Skor tertinggi untuk jawaban benar

68 = Jumlah responden

Rancangan prosedur pengolahan data penelitian terdiri dari beberapa tahap, yaitu uji normalitas terhadap hasil *pretest* dan *posttest*. Jika masing-masing uji normalitas menghasilkan besaran *p-value* > 0,05. Jika terdistribusi normal akan dilanjutkan dengan metode *paired t-test*. Sebaliknya jika uji normalitas menyatakan kedua kelompok data tersebut tidak terdistribusi normal, maka teknik analisis yang digunakan adalah *statistic nonparametric (uji Wilcoxon)*.

Uji *paired t-test* bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata dua kelompok sampel yang saling berpasangan atau berhubungan. Metode ini merupakan bagian dari analisis statistik parametrik, persyaratannya adalah data penelitian haruslah berdistribusi normal. Pedoman pengambilan keputusan dalam uji ini berdasarkan nilai signifikansi (*sig.*), yaitu jika nilai *sig. (2-tailed)* < 0,05 maka data dikatakan tidak terdistribusi normal. Sebaliknya jika nilai *sig. (2-tailed)* > 0,05 maka data dikatakan terdistribusi normal.

Teknik analisis *Wilcoxon* digunakan sebagai alternatif dari uji *paired t-test*. Metode ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata dua sampel yang saling

berpasangan. Pedoman pengambilan keputusan dalam uji ini berdasarkan nilai *asympt.sig. (2-tailed)*. Jika nilai *asympt.sig. (2-tailed)* < 0,05 maka edukasi yang diberikan berpengaruh pada tingkat pengetahuan dan sikap.

Hasil pengukuran sikap dikoreksi sesuai dengan kunci jawaban serta diberikan skor untuk tiap jawabannya. Total skor maksimum (yaitu 105) apabila seluruh pernyataan sikap dijawab dengan benar, yang didapat dari 5 (skor tertinggi) dikalikan dengan 21 (jumlah pernyataan). Total skor minimum (yaitu 21) apabila seluruh pernyataan sikap dijawab salah, yang mana nilai ini didapat dari 1 (skor terendah) dikalikan dengan 21 (jumlah pernyataan).

3. Hasil dan pembahasan

Instrumen evaluasi tingkat pengetahuan yang digunakan adalah kuesioner tervalidasi yang berisi 14 pertanyaan pengetahuan tentang bahan berbahaya dalam kosmetika yang harus dijawab. Kuesioner tersebut merupakan pertanyaan terpilih hasil validasi dari 30 pertanyaan. Nilai *Cronbach's Alpha* yang diperoleh adalah 0,709 (lebih besar dari 0,60), sehingga kuesioner dinyatakan reliabel atau konsisten.

Instrumen evaluasi sikap yang digunakan adalah kuesioner pernyataan sikap yang telah tervalidasi dan reliabel yakni sebanyak 21 pernyataan. Aspek pernyataan sikap meliputi dasar hukum, ciri kosmetika berbahaya, bahan kosmetika yang dibatasi dan dilarang, informasi kosmetika, pemilihan kosmetika dan pengaruh sosial. Metode edukasi diberikan melalui metode penyuluhan langsung luar jaringan (*offline*) dan tetap menaati protokol kesehatan *new normal* pandemi Covid-19 dengan jumlah sampel sebanyak 68 responden (Gambar 1).



Gambar 1. Edukasi bahan berbahaya dalam kosmetika melalui penyuluhan langsung

Kegiatan ini merupakan bentuk kerja sama dosen, mahasiswa dan pemuda Dusun Kalimanggis Morangan. Partisipasi warga dalam pelaksanaan kegiatan ini adalah partisipasi aktif, dari mulai perencanaan kegiatan, dan penyusunan jadwal penyuluhan. Remaja Dusun Kalimanggis sangat antusias menerima materi penyuluhan tentang bahan berbahaya dalam

kosmetik. Antusiasme responden ditunjukkan dengan banyaknya pertanyaan yang diajukan saat kegiatan berlangsung. Pertanyaan yang diajukan responden adalah seputar kosmetika yang digunakan setiap hari misalnya masker wajah, sabun cuci muka, pemutih badan, dan efek samping kosmetik. Pengisian kuesioner evaluasi tingkat pengetahuan serta sikap remaja sebelum dan sesudah edukasi tentang bahan berbahaya dalam kosmetika berjalan dengan lancar (Gambar 2).



Gambar 2. Pengisian kuesioner evaluasi

Mayoritas remaja Dusun Kalimanggis Morangan yang hadir pada kegiatan ini berusia 10 hingga 19 tahun (Tabel 1). Remaja merupakan usia produktif, mampu melaksanakan kinerja dengan baik, dan memiliki antusias yang tinggi. Sementara remaja berusia 20-24 tahun dan lebih dari 24 tahun atau belum menikah rata-rata sudah bekerja sehingga motivasi belajar cenderung menurun. Namun terdapat beberapa remaja usia tersebut yang masih termotivasi untuk mencari pengetahuan di sela-sela kesibukannya dan menghadiri kegiatan ini.

Pendidikan sangat berpengaruh terhadap pemahaman dan sikap (Ambarwati *et al.*, 2022). Seseorang yang berpendidikan yang lebih tinggi akan memiliki wawasan yang lebih luas dan cenderung memiliki usaha untuk mencari tahu kebenaran informasi. Seseorang yang memiliki dasar pendidikan lebih tinggi akan lebih mudah mengerti dan memahami informasi yang diterimanya. Akibatnya, orang tersebut akan lebih mudah dalam bersikap mengenai informasi yang diterimanya dibandingkan dengan seseorang yang berpendidikan lebih rendah. Mayoritas remaja Dusun Kalimanggis Morangan yang hadir berpendidikan SMP dan SMA (Tabel 1).

Pengalaman termasuk sumber pengetahuan karena dapat memperoleh kebenaran pengetahuan dengan cara mengulang kembali pengetahuan yang diperoleh dalam memecahkan masalah yang terjadi di masa lalu. Mayoritas remaja Dusun Kalimanggis Morangan yang hadir belum pernah mendapatkan informasi mengenai bahan berbahaya dalam kosmetika. Penyampaian informasi pada media massa dapat membawa pesan-pesan

yang berisi sugesti yang dapat mengarah ke opini seseorang. Sebanyak 9% remaja Dusun Kalimanggis Morangan yang pernah mendapatkan edukasi sebelumnya berasal dari media massa di internet atau media sosial. Hal ini sejalan dengan usia remaja pada *generasi Z* yang sangat konsumtif terhadap penggunaan *gadget*, *internet* dan media sosial seperti *Facebook*, *Instagram* dan *Tik Tok*. Karakteristik remaja Dusun Kalimanggis Morangan meliputi usia, pendidikan, pengalaman dan sumber informasi pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik remaja dusun Kalimanggis Morangan

Karakteristik remaja	Jumlah (orang) n=68	Presentase (%)
Rentang usia		
10 – 15 tahun	29	42,65
16 – 20 tahun	25	36,76
21 – 25 tahun	13	19,12
> 25 tahun atau belum menikah	1	1,47
Tingkat pendidikan		
SD	13	19,12
SMP	17	25
SMA/SMK	36	52,94
Diploma/Akademi	1	1,47
Sarjana	1	1,47
Pekerjaan		
Belum bekerja	54	79,42
Karyawan	8	11,76
Buruh	3	4,41
Lain-lain	3	4,41
Pengalaman		
Pernah mendapatkan edukasi tentang bahan berbahaya dalam kosmetika		
Tidak pernah	59	87
Pernah	9	13
Sumber informasi (bagi yg pernah mendapat edukasi)		
Internet	3	33
Media sosial	5	56
Lainnya	1	11

Jumlah sampel untuk uji normalitas adalah sebanyak 68 sampel. Hasil analisis ini dikatakan lebih akurat karena lebih dari 50 sampel. Hasil uji normalitas secara statistik menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*. Baik data sebelum (*pretest*) maupun sesudah (*posttest*) edukasi memiliki nilai *sig.* < 0,05 (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa baik data sebelum dan sesudah edukasi tidak terdistribusi normal sehingga data tidak memenuhi syarat dalam pengujian statistik parametrik, khususnya uji *paired t-test*. Oleh karena itu, uji statistik

dilanjutkan dengan metode statistik non parametrik, yakni uji *Wilcoxon*. Hasil ini terjadi pada data evaluasi tingkat pengetahuan maupun sikap.

Tabel 2. Hasil uji normalitas kuesioner pengetahuan dan sikap responden sebelum dan sesudah penyuluhan

	Jumlah responden	<i>Kolmogorof-Smirnov</i>	
		<i>Sig. tingkat pengetahuan</i>	<i>Sig. sikap</i>
Pretest (nilai sebelum penyuluhan)	68	0,003	0,003
Posttest (nilai setelah penyuluhan)	68	0,007	0,008

Sebagaimana uji *paired t-test*, uji *Wilcoxon* juga digunakan untuk mengetahui hubungan *pretest* dan *posttest* yaitu ada tidaknya perbedaan dua sampel yang saling berpasangan. Oleh karena itu, uji *Wilcoxon* dapat digunakan sebagai dasar untuk menjawab pertanyaan mengenai pengaruh pemberian intervensi berupa edukasi tentang bahan berbahaya dalam kosmetika terhadap tingkat pengetahuan remaja Dusun Kalimanggis Morangan. Hasil uji *Wilcoxon* diperoleh bahwa edukasi yang diberikan mempengaruhi tingkat pengetahuan remaja secara signifikan, namun tidak mempengaruhi sikap remaja (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil perbedaan pretest-posttest pada aspek pengetahuan dan sikap

Aspek	Jumlah responden (n)	<i>asympt. sig. (2-tailed)*</i>	Keterangan
Tingkat pengetahuan	68	0,000	Berbeda signifikan
Sikap	68	0,970	Tidak berbeda signifikan

*: Uji *Wilcoxon* (signifikansi: *asympt.sig. (2-tailed)* < 0,05)

Sebaran tingkat pengetahuan remaja dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan hasil evaluasi tersebut, terdapat peningkatan pengetahuan remaja Dusun Kalimanggis Morangan yang signifikan sesudah edukasi tentang bahan berbahaya dalam kosmetika. Tingkat pengetahuan dengan kategori baik meningkat sebanyak 13%, kategori cukup menurun sebanyak 7%, dan kategori kurang menurun sebanyak 6%. Peningkatan persentasi tingkat pengetahuan ini lebih rendah dari penelitian serupa yang dilakukan oleh Fajriah *et al.*, (2021), yaitu dengan peningkatan sebesar 21%. Perbedaan ini sangat dimungkinkan oleh objek penelitian yang berbeda, yang mana penelitian tersebut menggunakan siswa Sekolah Menengah Atas sebagai objek penelitian sehingga mempunyai kemampuan yang lebih beragam.

Tabel 4. Sebaran tingkat pengetahuan remaja sebelum dan sesudah edukasi bahan berbahaya dalam kosmetika

Kategori tingkat pengetahuan	Jumlah remaja			
	Pretest		Posttest	
	(orang)	(%)	(orang)	(%)
Baik	16	24	27	40
Cukup	33	48	31	46
Kurang	19	28	10	14
Total	68	100	68	100

Pendekatan dan cara penyampaian materi dirasa berpengaruh pada tingkat perhatian remaja Dusun Kalimanggis Morangan terhadap pokok bahasan. Perkenalan tentang diri pemateri penting dilakukan dengan benar. Hal ini berguna untuk membangun keyakinan atau kepercayaan pada remaja Dusun Kalimanggis Morangan bahwa mereka tidak semata-mata sebagai objek penelitian tetapi juga menyadarkan bahwa materi yang akan disampaikan penting bagi pribadinya dan tugasnya. Jika kondisi tersebut sudah diperoleh maka suasana selama edukasi berlangsung akan terasa dinamis, sehingga remaja Dusun Kalimanggis Morangan menjadi aktif dan komunikasi dua arah terjadi dengan baik. Pengaruh kemampuan dan kepercayaan peserta terhadap pembicara ini mempunyai pengaruh besar terhadap keberhasilan program, seperti yang telah diteliti oleh Ambarwati *et al.*, (2022) dan sesuai dengan teori tentang metode pemberian materi terhadap tingkat kognitif seseorang (Wolf *et al.*, 2015).

Distribusi jumlah responden yang menjawab dengan benar berdasarkan indikator materi tingkat pengetahuan pasca edukasi tertera pada Tabel 5. Responden memiliki tingkat pengetahuan yang baik pada indikator dasar hukum bahan kosmetika, definisi kosmetika, bahan tabir surya yang diijinkan, serta penandaan kosmetika. Hal ini menunjukkan bahwa edukasi yang diberikan telah mampu memberikan pemahaman bagi remaja Dusun Kalimanggis Morangan.

Namun, pemahaman mengenai bahan berbahaya yang dilarang dalam kosmetika serta bahan pengawet yang diijinkan perlu ditingkatkan. Hal ini dapat terjadi karena nama bahan berbahaya yang dilarang dalam kosmetika masih terasa asing bagi responden. Selain itu, jumlah bahan berbahaya tersebut terbilang tidak sedikit sehingga responden sulit mengingatnya, sebagaimana yang dipaparkan dalam penelitian Agustina *et al.*, (2020). Akan tetapi jumlah responden yang menjawab dengan benar pada kedua indikator tersebut lebih banyak dibandingkan dengan sebelum edukasi. Walau edukasi yang telah diberikan telah mampu meningkatkan pengetahuan secara signifikan, namun masih perlu dilakukan edukasi lanjutan mengenai kedua indikator tersebut agar pemahaman remaja Dusun

Kalimanggis Morangan dapat menyeluruh. Pengulangan edukasi nantinya dapat meningkatkan pemahaman seseorang sehingga dapat mempengaruhi keputusan dalam menentukan sikap seseorang.

Tabel 5. Distribusi jumlah responden yang menjawab dengan benar pada tiap indikator pertanyaan tingkat pengetahuan paska edukasi

No.	Indikator materi	Responden menjawab dengan benar		Responden menjawab dengan salah	
		Jumlah (orang)	Persentase (%)	Jumlah (orang)	Persentase (%)
1	Dasar hukum bahan kosmetika	65	96	3	4
2	Definisi kosmetika	56	82	13	18
3	Bahan berbahaya yang dilarang dalam kosmetika	30	44	38	56
4	Bahan pengawet yang diijinkan	38	56	30	44
5	Bahan tabir surya yang diijinkan	59	87	9	13
6	Penandaan kosmetika	58	85	10	15

Berdasarkan Tabel 6, terdapat beberapa aspek sikap yang mengalami peningkatan. Persentase kenaikan pada tiap aspek tidaklah signifikan seperti yang tercantum pada Tabel 3.

Tabel 6. Sebaran aspek sikap remaja sebelum dan sesudah edukasi bahan berbahaya dalam kosmetika

No.	Aspek sikap	Jawaban benar dari remaja			
		Pretest		Posttest	
		Skor	Persentase (%)	Skor	Persentase (%)
1	Dasar hukum kosmetika	219	64,41	187	55
2	Ciri kosmetika berbahaya	1474	72,25	1508	73,92
3	Bahan kosmetika yang dibatasi dan dilarang	973	71,54	961	70,66
4	Penandaan kosmetika	283	83,24	288	84,71
5	Informasi kosmetika	1069	78,60	1109	81,54
6	Pemilihan kosmetika	505	74,26	523	76,91
7	Pengaruh social	789	77,35	801	78,53

Lima aspek sikap yang mengalami peningkatan diantaranya ciri kosmetika berbahaya, penandaan kosmetika, informasi kosmetika, pemilihan kosmetika, dan pengaruh sosial. Hal tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa satu kali edukasi tidak dapat secara langsung mengubah sikap remaja dalam mengambil keputusan. Selain itu dapat berarti pula bahwa penyuluhan yang dilakukan mulai mengubah sikap awal yang dimiliki oleh responden.

Pada aspek sikap dasar hukum kosmetika serta bahan kosmetika yang dibatasi dan dilarang mengalami penurunan yang tidak signifikan. Meskipun terdapat perubahan tingkatan sikap, metode intervensi berupa edukasi mengenai bahan berbahaya dalam kosmetika tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pengambilan sikap remaja Dusun Kalimanggis Morangan. Hal ini dapat terjadi karena edukasi hanya diberikan satu waktu. Perilaku manusia dipengaruhi oleh faktor situasional, yaitu faktor eksternal yang mempengaruhi manusia dalam membentuk perilaku. Salah satu faktor lingkungan ini adalah faktor ekologis, yaitu kondisi keadaan alam, geografis, iklim, dan cuaca (Fajarini, 2022). Lokasi penelitian merupakan desa yang letaknya tidak jauh dari objek gunung. Lingkungan alam yang terbiasa damai dapat menjadi alasan bahwa responden memerlukan waktu secara perlahan dan hati-hati dalam mengubah sikap mereka.

Pengungkapan sikap bukanlah hal yang sederhana. Terdapat berbagai kelemahan yang dapat menjadi faktor penghambat menuju pembentukan sikap yang positif, sehingga perubahan sikap tidaklah langsung terjadi dalam waktu instan. Pengungkapan sikap merupakan proses yang rentan terhadap berbagai kemungkinan pengaruh lingkungan. Sikap merupakan fungsi keyakinan seseorang yang ditentukan oleh keyakinan pribadi maupun kelompok, sedangkan keyakinan ini akan dapat diperoleh dengan perolehan paparan yang rutin tentang suatu hal (Zuchdi, 1995). Oleh karena itu, bentuk pengulangan intervensi berupa edukasi diperlukan supaya sikap dapat terbentuk secara sempurna.

4. Kesimpulan

Edukasi melalui penyuluhan langsung tentang bahan berbahaya dalam kosmetika secara signifikan dapat meningkatkan tingkat pengetahuan remaja Dusun Kalimanggis Morangan. Namun edukasi yang diberikan hanya satu waktu tersebut tidak berpengaruh secara signifikan terhadap sikap remaja Dusun Kalimanggis Morangan. Saran untuk penelitian selanjutnya adalah memberikan edukasi dan pemahaman yang lebih intensif mengenai bahan berbahaya yang dilarang dalam kosmetika serta pengawet yang diijinkan berdasarkan informasi terkini.

Ucapan terimakasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada Politeknik Kesehatan Bhakti Setya Indonesia atas dukungan menyediakan sarana dan prasarana sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik. Bapak Budiyo selaku ketua RT 8 yang telah memberikan bantuan dana dan tempat penelitian. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada Pemerintah Kalurahan Sindumartani, Kapanewon Ngemplak, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta,

Bapak Drs.H.Anang Zamroni,M.S.I. selaku lurah Sindumartani, Bapak Wahid Rubiyanto selaku Kepala Dusun Kalimanggis Morangan, Saudara Agus Rohmadi selaku ketua pemuda dan semua pihak yang membantu pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih atas kepercayaannya kepada kami untuk mengadakan kegiatan edukasi bahan berbahaya dalam kosmetika kepada remaja di Dusun Kalimanggis Morangan.

Daftar pustaka

- Agustina, L., Shoviantari, F., & Yuliati, N. (2020). Penyuluhan kosmetik yang aman dan notifikasi kosmetik. *Journal of Community Engagement and Employment*, 2(1), 45–49.
- Aliyev, R., & Finsterer, J. (2020). Systemic Toxicity to Betamethasone Ointment. *Clinical Case Reports*, 8(9), 1635–1637. <https://doi.org/10.1002/ccr3.2957>
- Ambarwati, N. S. S., Armandari, M. O., Hidajatulloh, A. F., & Nabilah, N. L. (2022). Penyuluhan pengetahuan melalui media buku saku dalam menyosialisasikan bahan kimia berbahaya pada kosmetika di lingkungan Kelurahan Jatinegara Kaum, Pulogadung, Jakarta Timur. *Sarwahita : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 19(3), 475–490.
- Anggraeni, V. J., Yuliantini, A., & Rahmawati, F. (2018). Analisis Cemaran Logam Berat Merkuri dalam Krim Pemutih Wajah yang Beredar Di Pasar Tradisional dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom. *Journal of Pharmacopolium*, 1(1), 44–50. <https://doi.org/10.36465/jop.v1i1.395>
- Apriliana, N. S., & Utomo, E. P. (2019). Pengaruh Intensitas Melihat Iklan di Instagram terhadap Pengetahuan dan Perilaku Konsumtif Remaja Putri. *Jurnal Komunikasi*, 13(2), 179–190. <https://doi.org/10.20885/komunikasi.vol13.iss2.art5>
- Arikunto, S. (2021). *Dasar-Dasar Evaluasi Pendidikan* (3rd ed.). Bumi Aksara.
- BPOM RI. (2020). *Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Tahun 2019* (Jilid 1). BPOM RI.
- BPOM RI. (2022a). *Kosmetika Mengandung Bahan Dilarang/Bahan Berbahaya Hasil Laporan Otoritas Pengawasan Obat dan Makanan Negara Lain Oktober 2021 - Agustus 2022* (Penjelasan Publik No. PW.02.04.1.4.10.22.169). BPOM RI.
- BPOM RI. (2022b). *Kosmetika Mengandung Bahan Dilarang/Bahan Berbahaya Hasil Pengawasan Badan POM Oktober 2021 - Agustus 2022* (Penjelasan Publik No. PW.02.04.1.4.10.22.168). Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta.
- BPOM RI. (2022c). Press Release: Aksi Penertiban Pasar dari Kosmetika Ilegal dan Mengandung Bahan Berbahaya Tahun 2022. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta.
- BPOM RI. (2022d). *Tertibkan Pasar dari Kosmetik Ilegal dan atau Mengandung Bahan Berbahaya*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta.
- Bratha, S. D. K., & Sukmawati. (2022). *Pengetahuan dan Sikap Masyarakat tentang Vaksinasi Covid*. Penerbit NEM.
- Diningsih, A., & Vera, Y. (2020). Penyuluhan penggunaan kosmetik yang aman bagi remaja di Desa Labuhan Labo. *Jurnal Eduction and Development*, 8(1), 431–433.
- Fadillah, F. N. (2018). Pengaruh Gaya Hidup Konsumtif Dan Beauty Vlogger Sebagai Kelompok Referensi Terhadap Keputusan Pembelian Kosmetik (Studi Pada Remaja Perempuan Pengguna Kosmetik Korea Di Surabaya). *Jurnal Ilmu Manajemen (JIM)*, 7(1), 133–142.
- Fajarini, H. (2022). *Ilmu Perilaku dan Etika Profesi Farmasi*. Penerbit Lakeisha.
- Fajriah, L., Abdillah, M. H., Retnaningsih, A., Feladita, N., & Oktaviantari, D. E. (2021). Penyuluhan penyalahgunaan bahan kosmetik berbahaya di SMK PGRI Pringsewu.

- Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat*, 4(1), 169–174.
- Fauzia, D. (2018). Aspek Farmakologi Retinoid pada Kosmeseutikal. *Jurnal Kesehatan Melayu*, 1(1), 35. <https://doi.org/10.26891/jkm.v1i1.2017.35-40>
- Febrinastri, F. (2022). Hingga Juli 2022, Industri Kosmetik Meningkat 83% dan Didominasi UKM. *Suara.Com*.
- Hukmas. (2016). Waspada Kosmetika Mengandung Bahan Berbahaya: Pilih Kosmetika Aman untuk Tampil Cantik. Available at <https://www.pom.go.id>
- Indriaty, S., Hidayati, N. R., & Bachtiar, A. (2018). Bahaya kosmetika pemutih yang mengandung merkuri dan hidroquinon serta pelatihan pengecekan registrasi kosmetika di Rumah Sakit Gunung Jati Cirebon. *Jurnal Surya Masyarakat*, 1(1), 8–11.
- Jacob, A. A., Yaqoub, A. A., & Rahmani, M. A. (2020). Impact of Abuse of Topical Corticosteroids and Counterfeit Cosmetic Products for the Face: Prospective Demographic Study in Basrah City, Iraq. *Current Drug Safety*, 15(1), 25–31. <https://doi.org/10.2174/1574886314666191001100357>
- Khan, A. D., & Alam, M. N. (2019). Cosmetics and Their Associated Adverse Effects: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1–6. <https://doi.org/10.31069/japsr.v2i1.1>
- Lestari, R. D., & Widayati, A. (2022). Profil Penggunaan Kosmetika di kalangan Remaja Putri SMK Indonesia Yogyakarta. *Majalah Farmaseutik*, 18(1), 8–16. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v18i1.70915>
- Madelina, W., & Sulistyaningsih. (2018). Review: Resistensi Antibiotik pada Terapi Pengobatan Jerawat. *Jurnal Farmaka*, 16(2), 105–117.
- Maggadani, B. P., Harmita, Harahap, Y., & Hutabalian, H. L. N. (2019). Simultaneous Identification and Quantification of Hydroquinone, Tretinoin and Betamethasone in Cosmetics Products by Isocratic Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(2), 181–185. <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i3.32297>
- Mariyani, Patala, R., & Pratiwi, D. (2023). Penyuluhan pemilihan dan penggunaan kosmetik yang aman tanpa bahan kimia berbahaya terhadap remaja. *Jurnal Malikussaleh Mengabdi*, 2(1), 23–28.
- Mukti, A. W., Sari, D. P., Hardani, P. T., Maulidia, & Suwarso, L. M. I. (2022). Edukasi kosmetik aman dan bebas dari bahan kimia berbahaya. *Indonesia Berdaya*, 3(1), 119–124.
- Naqvi, S. A. R., Idrees, F., Sherazi, T. A., Shahzad, S. A., Hassan, S. U., & Ashraf, N. (2022). Toxicology of Heavy Metals Used in Cosmetics. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 67(3), 5615–5622. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072022000305615>
- Ozbey, R., & Okur, M. I. (2020). The Use of 4% Hydroquinone, 0.1% Tretinoin, and 0.1% Betamethasone Creams to Prevent Hyperpigmentation of Split-Thickness Skin Grafts in Long-Evans Rats. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 19(10), 2663–2668. <https://doi.org/10.1111/JOCD.13315>
- Padmaratri, L. (2022). BPOM Rilis Daftar 16 Kosmetik Berbahaya. In *Harian Jogja*.
- Powale, S., Chandel, V. K., & Asati, S. (2022). Preparation and Characterization of Ethosomes for Topical Delivery of Clindamycin. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(1), 109–113. <https://doi.org/10.22270/JDDT.V12I1.5190>
- Saputro, K. Z. (2017). Memahami Ciri dan Tugas Perkembangan Masa Remaja. *Aplikasia: Jurnal Aplikasi Ilmu-Ilmu Agama*, 17(1), 25–32. <https://doi.org/10.14421/aplikasia.v17i1.1362>
- Sende, I. F., Pramudita, A. W., Salafuddin, M. G., & Yuniyanto, E. P. (2020). Peredaran Kosmetik Pemutih Ilegal di Indonesia dan Upaya Penanggulangannya. *Eruditio: Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 1(1), 48–62. <https://doi.org/10.54384/eruditio.v1i1.30>
- Supriningrum, R., & Jubaidah, S. (2019). Penyuluhan kosmetika aman dan identifikasi Merkuri dalam kosmetika. *Abdimas Mahakam Journal*, 3(2), 136–141.

- Wahyudi, A., & Nurhayati, R. (2022). Farmakovigilans: Studi Literatur Efek Merugikan Penggunaan Kortikosteroid Topikal pada Wajah. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 5(2), 108–112. <https://dx.doi.org/10.35473/ijpnp.v5i2>
- Waranuch, N., Phimnuan, P., Yakaew, S., Nakyai, W., Grandmottet, F., Onlom, C., Srivilai, J., & Viyoch, J. (2019). Antiacne and antiblotch activities of a formulated combination of Aloe barbadensis leaf powder, Garcinia mangostana peel extract, and Camellia sinensis leaf extract. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 12, 383. <https://doi.org/10.2147/CCID.S200564>
- Wolf, L. K., Bazargani, N., Kilford, E. J., Dumontheil, I., & Blakemore, S.-J. (2015). The audience effect in adolescence depends on who's looking over your shoulder. *Journal of Adolescence*, 43, 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.adolescence.2015.05.003>
- Zuchdi, D. (1995). Pembentukan sikap. *Cakrawala Pendidikan*, 14(3), 51–63.



Antibacterial and antifungal activities of extract and fractions of pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) leaves

Aktivitas antibakteri dan antijamur dari ekstrak dan fraksi daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb)

Riyan Setiyanto*, Iin Suhesti, Annisa Dwi Utami

Prodi D3 Farmasi Politeknik Indonusa Surakarta, Indonesia

*Corresponding author: rivansetiyanto@poltekindonusa.ac.id

Abstract

Background: *Pandanus amaryllifolius* Roxb leaves are commonly used as a food additive, green coloring agent, and flavor enhancer. Additionally, these leaves are renowned in herbal medicine for their potential to inhibit cancer cell growth, relieve diarrhea, and act as antioxidants. The leaves contain alkaloids with promising antibacterial and antifungal properties.

Objective: This research aimed to evaluate the inhibitory zone activity of leaf extract (ethanol), n-hexane, and ethyl acetate fractions against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, and *Candida albicans*.

Method: The maceration method was used for extraction, employing a 70% ethanol solution as the solvent. The ethanol extract was then fractionated using n-hexane and ethyl acetate. The Kirby-Bauer disc diffusion method was applied to assess the antibacterial and antifungal activity of the extracts and fractions. The diameter of the inhibition zones was measured and analyzed statistically.

Result: The ethanol extract demonstrated the strongest antibacterial activity against MRSA compared to the n-hexane fraction and the ethyl acetate fraction. None of the concentration variations significantly inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Candida albicans*.

Conclusion: The ethanolic extract of *Pandanus amaryllifolius* Roxb leaves shows potential as an antibacterial agent against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Pandanus amaryllifolius* Roxb., 70% ethanol extract, fractionation, disc diffusion method, MRSA

Intisari

Latar belakang: Daun *Pandanus amaryllifolius* Roxb umumnya digunakan sebagai komponen tambahan makanan zat warna hijau dan penambah rasa. Daun ini telah dikenal luas sebagai obat herbal yang mempunyai potensi menghambat pertumbuhan sel kanker, meringankan diare, berkhasiat sebagai antioksidan. Kandungan daunnya mengandung alkaloid yang berpotensi menunjukkan efek antibakteri dan antijamur.

Tujuan: Penelitian ini untuk mengukur aktivitas zona hambat dari ekstrak daun (etanol), fraksi n-heksan dan etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* resisten methicillin, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*.

Metode: Metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah larutan yang terdiri dari 70% etanol. Ekstrak etanol dilakukan fraksinasi n-heksan dan etil asetat. Metode difusi cakram Kirby-Bauer digunakan uji aktivitas diagnostik antibakteri dan antijamur. Diameter zona hambat kemudian diukur dan dilakukan analisis statistik.

Hasil: Ekstrak daun (etanol) memperlihatkan daya antibakteri yang paling kuat terhadap MRSA dibandingkan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat. Variasi konsentrasi secara substansial mengurangi pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Candida albicans*.

Kesimpulan: Ekstrak daun *Pandanus amaryllifolius* Roxb yang dilarutkan dalam pelarut etanol 70% memiliki potensi antibakteri untuk *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin.

Kata kunci: *Pandanus amaryllifolius* Roxb, ekstrak etanol 70%, fraksinasi, metode difusi cakram, MRSA

1. Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang memiliki sumber daya alam yang melimpah. Masyarakat Jawa, Sunda, Manado, Kalimantan, dan daerah lainnya masih bergantung pada tanaman untuk pengobatan konvensional, sebuah praktik yang telah diwariskan secara turun-temurun (Adiyasa & Meiyanti, 2021). Pada tahun 2012 dan 2015, Badan LITBANGKES Kemenkes melakukan studi Tumbuhan Obat dan Jamu (RISTOJA). Masyarakat telah menggunakan total 10.048 tumbuhan tradisional untuk mengobati 74 kondisi yang berbeda, sebagaimana diidentifikasi oleh penelitian tersebut. Sebanyak 19.871 tanaman obat yang sering digunakan sebagai tumbuhan tradisional, 16.218 di antaranya telah berhasil diidentifikasi, menurut BPPT 2018.

Tanaman tropis yang dikenal sebagai *Pandanus amaryllifolius* (Roxb.) sering digunakan sebagai bahan makanan (Faras *et al.*, 2014). Daun pandan wangi diyakini memiliki sifat antibakteri karena kandungannya, termasuk flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, polifenol, dan pigmen (Mardiyarningsih & Aini 2014). Komponen kimia yang ada dalam daun pandan wangi telah ditemukan memiliki sifat antijamur dalam penelitian sebelumnya. Tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid merupakan komponen kimia daun tersebut diketahui memiliki daya antibakteri dan antijamur (Tias, 2019).

Kemanjuran pilihan pengobatan empiris berisiko karena peningkatan resistensi antibiotik baru-baru ini di antara patogen yang menyebabkan infeksi saluran pernapasan yang parah. Dalam *European Epech Study*, ditemukan bahwa 60% dari isolat *Staphylococcus aureus* yang diperiksa adalah MRSA. Sebanyak 72% patogen *S. aureus* yang menyebabkan bakteremia dan teramati pada pasien adalah *S. aureus* resisten Methicillin (MRSA) (Sagita *et al.*, 2020). Daun pandan memiliki sifat aromatik dan dapat digunakan alternatif untuk pengobatan infeksi patogen dan penyembuhan luka yang disebabkan oleh bakteri (Nofikasari *et al.*, 2017). Daun pandan juga dapat digunakan sebagai pengobatan keputihan yang disebabkan oleh *Candida albicans* (Tias, 2019).

Penelitian ini mempunyai tujuan untuk menilai sifat antibakteri dan antijamur ekstrak daun pandan wangi dalam tiga bentuk yang berbeda: ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan. Penggunaan ketiga jenis pelarut ini dimaksudkan untuk melarutkan komponen zat aktif yang terdapat dalam daun yang memiliki karakteristik kepolaran yang berbeda-beda.

2. Metode

2.1 Bahan dan alat

Bahan utama penelitian ini adalah simplisia daun pandan (*P. amaryllifolius* (Roxb.)), pelarutnya adalah etanol 70 % (PT. Bratachem). Bahan pelarut untuk fraksinasi adalah pelarut n-heksan dan etil asetat (PT Bratachem). Media pembiakan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB) (Merck) dan akuades. Media pembiakan jamur adalah *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA). Bakteri yang digunakan adalah *E. coli*, *S. aureus* resisten Methicillin MRSA, *C. albicans*, cakram disk dan cakram antibiotik yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FK UNS. Dalam uji mikrobiologi juga digunakan NaCl steril dan ketoconazole. Reagen yang digunakan HCl dan pereaksi Meyer diperoleh dari Laboratorium Kimia Politeknik Indonusa Surakarta.

Peralatan kaca yang digunakan antara lain erlenmeyer, gelas ukur, petri disk dan labu takar (Pyrex). Alat -alat lain yang digunakan antara lain: cawan porselen, bejana maserasi, corong pisah (IWAKI), oven (Memmert), inkubator (Memmert), rotary evaporator (B-ONE Horizontal Rotary Evaporator 2000 Series RE-2000 HN), waterbath, dan desikator (DURAN Desiccator 247816107).

2.2 Determinasi tanaman

Daun *P. amaryllifolius* Roxb dikumpulkan dari dusun Kauman, desa Keden, kecamatan Pedan, kabupaten Klaten. Akar, batang, dan daun tanaman pandan wangi diidentifikasi di Laboratorium Biologi FKIP UMS.

2.3 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia menggunakan daun pandan wangi yang sudah matang dan berwarna hijau sempurna. Daun disortasi, kemudian dibersihkan dengan menggunakan air yang mengalir. Daun pandan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 18 jam (Kemenkes RI, 2017). Daun yang sudah menjadi simplisia kering disortasi kembali kemudian diserbuk. Perhitungan susut pengeringan simplisia dan kadar air dilakukan pada tahap akhir.

2.4 Ekstraksi dan pembuatan variasi konsentrasi ekstrak

Serbuk simplisia direndam dalam pelarut etanol 70% dengan rasio 1:10 pada suhu kamar selama tiga hari, dengan pengadukan yang dilakukan setiap empat jam atau enam jam sekali. Ekstrak etanol kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat dari residu maserasi dengan menggunakan kertas saring. Pelarut dalam ekstrak kemudian diuapkan dengan cara memanaskannya pada suhu

40°C menggunakan *rotating vacuum evaporator* kemudian dilanjutkan dengan mengeringkan ekstrak dengan *waterbath* pada suhu 60°C (Handoyo, 2020). Selanjutnya dilakukan analisis kadar air dan uji ketiadaan etanol pada ekstrak kental yang dihasilkan. Ekstrak etanol (b/b) disiapkan dengan konsentrasi 20% (ekstrak I), 40% (ekstrak II), dan 60% (ekstrak III).

2.5 Skrining fitokimia

Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia yang melibatkan penggunaan berbagai reagen untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa-senyawa, diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, kuinon, saponin, steroid-terpenoid, dan tanin berdasarkan perubahan warna yang dihasilkan.

2.5.1 Uji kandungan flavonoid

Sebanyak satu gram ekstrak (ekstrak I, II, III) dilarutkan seluruhnya dalam etanol. Kemudian, bubuk magnesium dan lima tetes asam klorida pekat (HCl) ditambahkan satu tetes setiap kali. Warna yang dihasilkan akan muncul sebagai warna kuning, merah, atau oranye jika hasilnya positif (Oktavia *et al.*, 2020).

2.5.2 Uji kandungan alkaloid

Satu gram ekstrak (ekstrak I, II, III) dipindahkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL HCl, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu ditambahkan dengan pereaksi Mayer untuk dideteksi. Sampel yang menunjukkan adanya endapan putih atau kuning menandakan hasil positif (Oktavia *et al.*, 2020).

2.5.3 Uji kandungan saponin

Uji saponin merupakan teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan saponin. Larutan dibuat dengan mencampurkan satu gram ekstrak etanol (ekstrak I, II, III) dengan 10 mL akuades yang telah dipanaskan. Ekstrak etanol pada awalnya dilarutkan dalam *waterbath* kemudian diaduk dengan kuat, HCl ditambahkan setelah didiamkan selama 10 menit. Jika dihasilkan buih maka menandakan hasil positif (Syamsuddin & Karim 2019).

2.6 Fraksinasi dan pembuatan variasi konsentrasi fraksi

Pelarut n-heksana 10 mL ditambahkan ke dalam ekstrak kental daun pandan dalam corong pemisah. Kocok campuran dengan kuat kemudian diamkan campuran tersebut hingga mengalami pemisahan. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi air. Dengan prosedur yang sama fraksi etanol kemudian dipisahkan dengan menggunakan 10 mL etil asetat. Seluruh fraksi dikumpulkan kemudian

diupayakan menggunakan *waterbath* (Islamiyati & Pujiastuti, 2020). Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat kemudian dibuat konsentrasi masing-masing 10%, 20%, dan 30% (b/b).

2.7 Uji aktivitas antibakteri

Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Sebanyak 10 mL larutan ekstrak etanol, serta fraksi n-heksana dan etil asetat dengan berbagai konsentrasi digunakan untuk merendam cakram kertas steril berukuran 6 mm selama 15 menit. (Fiana *et al.*, 2020). Selanjutnya, cakram dievaluasi aktivitas penghambatannya terhadap bakteri dengan menginkubasinya di media NA pada suhu 37°C selama 24 jam (Kosasi *et al.*, 2019) dan pada media SDA untuk jamur selama 48-72 jam (Sophia & Suraini, 2022).

Ekstrak etanol, fraksi n-heksana etil asetat diuji terhadap bakteri *MRSA*, *E. coli*, dan *C. albicans*. Zona bening yang terbentuk sebagai hasil parameter yang digunakan. Zona bening diukur dengan jangka sorong (satuan mm). Kontrol positif untuk bakteri *E. coli* adalah kloramfenikol, sedangkan azitromisin digunakan untuk bakteri *MRSA*. Ketocenazole digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian *C. albicans* (CLSI, 2020). Investigasi antibakteri dan antijamur menggunakan larutan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Zona hambat digunakan untuk mengukur tingkat penghambatan pertumbuhan bakteri pada uji aktivitas antibakteri.

2.8 Analisa data statistik

Analisis data penelitian ini menggunakan metode analisis parametrik dan non-parametrik. Analisis parametrik dilakukan apabila data yang diperoleh dari diameter zona bening (hambat) antibakteri, diameter zona bening (hambat) antijamur, variasi konsentrasi ekstrak etanol, variasi konsentrasi fraksi n-heksana, etil asetat berdistribusi normal dan homogen. Analisis non parametrik dilakukan ketika data yang diperoleh tidak mengikuti distribusi normal. Analisis parametrik dalam konteks ini menggunakan perangkat SPSS (*Statistical and Service Solution*) 22 *one-way* ANOVA, menggunakan pendekatan statistik dengan tingkat kepercayaan 95%. Interpretasi dari temuan uji ANOVA adalah sebagai berikut: Nilai *p* kurang dari 0,05 pada kolom signifikan menunjukkan perbedaan yang signifikan antara sampel. *Kruskall-Wallis* adalah pendekatan analisis non-parametrik yang digunakan ketika hasil data tidak terdistribusi normal. Nilai *p* yang kurang dari atau sama dengan tingkat signifikansi α (0,05), digunakan untuk menginterpretasikan temuan uji *Kruskall-Wallis* (Nazaruddin & Fatmaningrum, 2021).

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Hasil determinasi identifikasi *Pandanus amaryllifolius* Roxb

Untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan sebagai sampel adalah tanaman pandan wangi, maka dilakukan prosedur determinasi dan identifikasi. Di Lab. Biologi FKIP UMS, determinasi dilakukan dengan menitikberatkan pada analisis akar, batang, dan daun pohon pandan wangi. Hasil analisis menyebutkan sampel tersebut teridentifikasi sebagai pandan wangi (*P. amaryllifolius* (Roxb.)).

3.2 Hasil pembuatan simplisia *Pandanus amaryllifolius* Roxb.

Tahap pertama dalam pembuatan ekstrak adalah pembuatan simplisia (Health, 2017). Tujuan dari penghalusan simplisia adalah untuk meningkatkan luas permukaan jaringan tanaman, untuk meningkatkan efisiensi proses ekstraksi (Kurniawati, 2015). Setelah itu dilakukan perhitungan *LOD* (*Loss on Drying*) untuk mengetahui kuantitas kandungan simplisia yang hilang selama prosedur pengeringan. Tabel 1 berikut ini menyajikan hasil perhitungan tersebut:

Tabel 1. Hasil LOD simplisia

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	LOD (%)
1554,3 gram	150,56 gr	90,32 %

Kuantifikasi bahan residu setelah proses pengeringan dengan menggunakan suhu 105°C selama kurang lebih 30 menit atau hingga tercapai bobot konstan disebut sebagai susut pengeringan (Kemenkes RI, 2017). Berat konstan didefinisikan sebagai urutan penimbangan yang memiliki selisih maksimum 0,25% atau 0,0025 mg, seperti yang didefinisikan oleh Depkes RI pada tahun 2000. Uji susut bobot pengeringan dirancang untuk menentukan jumlah maksimum zat yang hilang selama proses pengeringan. Uji susut pengeringan yang dilakukan pada daun pandan wangi menghasilkan nilai 0,267%, sedangkan uji susut pengeringan awal yang dilakukan pada daun pandan wangi menghasilkan nilai 0,0195%. Hasil uji susut bobot pengeringan menunjukkan bahwa penimbangan simplisia secara berurutan berbeda maksimal 0,25% atau 0,0025 mg. Kadar air dari simplisia yang telah dikeringkan adalah 5,58%, seperti yang ditunjukkan oleh hasil pengujian. Hasil yang diperoleh sesuai dengan spesifikasi susut pengeringan untuk simplisia daun pandan wangi, seperti yang diuraikan dalam Farmakope Herbal Indonesia, yang menetapkan maksimum 10% (Kemenkes RI, 2017).

3.3 Ekstraksi *Pandanus amaryllifolius* Roxb.

Keberhasilan mengekstraksi metabolit dari tanaman menggunakan pelarut sangat bergantung pada kelarutan senyawa dalam pelarut, berdasarkan konsep bahwa senyawa akan larut dalam pelarut yang mempunyai sifat kepolaran yang relatif sama (Puspita, 2012). Etanol digunakan sebagai pelarut untuk memisahkan molekul polar, yang kemudian dipisahkan menggunakan n-heksana untuk mendapatkan senyawa non-polar kemudian difraksinasi menggunakan etilasetat. Hasil rendemen ekstrak didapatkan nilai 10,32 % seperti yang tercantum di Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen ekstrak

Simplisia kering (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen(%)
150	15,48	10,32

Tabel 3. Uji Organoleptis ekstrak yang diperoleh yang meliputi bentuk, warna dan bau

Bentuk	Warna	Bau
Ekstrak kental	Hijau kehitaman	Khas menyengat

Uji organoleptik (Tabel 3) dilakukan untuk mengetahui bentuk, warna, dan aroma daun pandan. Evaluasi kadar air ekstrak dilakukan dengan menghitung jumlah air yang terdapat dalam bahan (Depkes RI, 2000). Kadar air ekstrak dipastikan sebesar 5,58% dengan menggunakan alat *moisture balance*. Kadar air ekstrak daun pandan wangi tidak diperbolehkan lebih 10%, seperti yang tertera pada buku "Farmakope Herbal Indonesia" (Kemenkes RI, 2017). Hal ini karena kualitas ekstrak dapat terganggu sebagai akibat dari perkembangan mikroorganisme yang berlebihan selama penyimpanan, yang mungkin disebabkan oleh tingkat kelembapan yang lebih tinggi. Ekstrak daun pandan wangi memenuhi standar kualitas ekstrak, yang mana dibuktikan dengan kadar air 8,27%.

Uji bebas etanol digunakan untuk menghilangkan etanol dari ekstrak untuk menghasilkan ekstrak murni bebas dari pelarut. Sifat antimikroba etanol mencegah terjadinya hasil positif palsu selama pengolahan sampel (Kurniawati, 2015). Prosedur analisis bebas etanol dilakukan dengan cara penambahan asam asetat dan asam sulfat sebagai pereaksi dan katalisator esterifikasi pada ekstrak daun pandan wangi yang kemudian dipanaskan. Uji bebas etanol ekstrak daun pandan wangi menunjukkan hasil tidak memiliki aroma khas ester (wangi). Fenomena ini terjadi karena tidak adanya ikatan kimia antara atom hidroksil (OH) dari asam asetat dan atom hidrogen dari etanol. Adanya asam sulfat yang berfungsi sebagai katalis sekaligus asam kuat memfasilitasi terjadinya reaksi ini, sehingga mencegah terbentuknya ester dan bau yang ditimbulkan (Wulandari, 2017). Ekstrak daun pandan wangi tidak mengandung etanol, seperti yang ditunjukkan oleh hasil pengujian.

3.4 Hasil skrining fitokimia *Pandanus amaryllifolius* Roxb

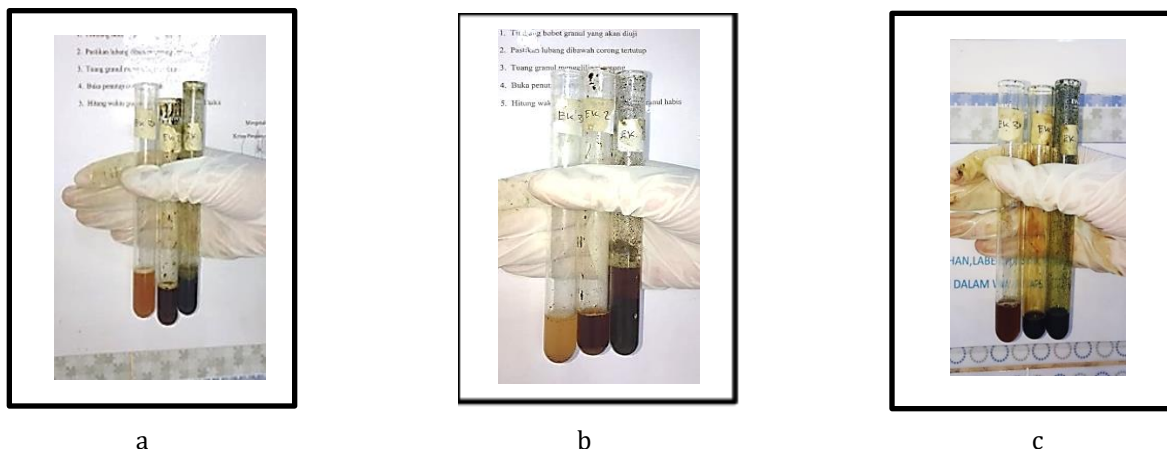
Hasil uji flavonoid (Gambar 1a) pada ekstrak etanol 70% daun pandan wangi I dan II adalah sebagai berikut: ekstrak I yang awalnya berwarna hijau pekat mengalami perubahan warna menjadi hijau kecoklatan, sedangkan ekstrak III mengalami perubahan warna menjadi kuning kecoklatan. Ekstrak I dan II dinyatakan positif mengandung flavonoid, sedangkan ekstrak III dinyatakan negatif, yang dibuktikan dengan ketiga hasil uji tersebut. Ekstrak etanol memperlihatkan adanya kandungan flavonoid dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kecoklatan (Hardianti *et al.*, 2022). Hasil uji kandungan flavonoid ekstrak III yang mengandung 60% ekstrak tidak menunjukkan hasil yang sama diduga karena kurangnya pereaksi uji yang digunakan pada sampel. Oleh karena itu, keberadaan flavonoid dalam ekstrak tidak dapat dideteksi. Flavonoid memberikan efek antibakteri melalui tiga mekanisme yang berbeda yaitu gangguan pada produksi asam nukleat, gangguan fungsi membran sel, dan penghambatan metabolisme energi (Widyastriana *et al.*, 2021).

Hasil uji alkaloid (Gambar 1b) pada ekstrak etanol 70% daun pandan wangi menunjukkan bahwa ketiga ekstrak tersebut mengandung alkaloid. Kandungan alkaloid pada ekstrak I, II, dan III menyebabkan sampel membentuk padatan putih ketika dicampur dengan pereaksi Mayer. Ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung alkaloid, diperlihatkan terbentuknya endapan putih pada ekstrak (Hardianti *et al.*, 2022). Alkaloid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menghalangi replikasi DNA serta enzim topoisomerase bakteri. Menghambat replikasi DNA akan mencegah pembelahan DNA, sehingga menghambat perkembangan bakteri (Widyastriana *et al.*, 2021).

Hasil uji saponin (Gambar 1c) pada ekstrak I, II, dan III daun pandan wangi menunjukkan bahwa buih pada sampel tetap bertahan dalam waktu lebih dari 10 menit. Oleh karena itu, ketiga ekstrak tersebut menunjukkan adanya kandungan saponin. Temuan ini sesuai literatur yang ada, yang menyatakan bahwa ekstrak yang memiliki kandungan saponin menunjukkan adanya buih dengan durasi lebih dari 10 menit (Hardianti *et al.*, 2022). Saponin berfungsi sebagai antibakteri mekanisme kerjanya menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan mengganggu permeabilitas membran. Saponin menempel pada membran sitoplasma, menyebabkan ketidakstabilan pada membran sel, dan menyebar melewati membran luar dan dinding sel yang lemah. Akibatnya, terjadi kebocoran sitoplasma dari dalam sel yang menyebabkan inisiasi kematian sel (Widyastriana *et al.*, 2021).

Hasil analisis fitokimia membuktikan bahwa ekstrak daun pandan mengandung saponin, alkaloid, dan flavonoid. Ketiga metabolit sekunder ini menunjukkan sifat farmakologis yang efektif

melawan bakteri dan jamur (Tias, 2019). Berdasarkan hasil tersebut uji mikrobiologi dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri dan antijamur ekstrak daun pandan wangi.



Gambar 1. Hasil uji kandungan fitokimia a (flavonoid), b (alkaloid), c (saponin)

3.4 Hasil uji aktivitas antibakteri dan antijamur *Pandanus amaryllifolius* Roxb

Fraksi n-heksana serta etil asetat dibuat dengan konsentrasi 10, 20, dan 30%, sedangkan ekstrak etanol dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 25, dan 60%. Metode difusi cakram digunakan untuk mengevaluasi sifat antibakteri dan antijamur. *Escherichia coli* dan *MRSA* adalah bakteri yang digunakan sedangkan *C. albicans* adalah jamur yang digunakan dalam penelitian ini. Hasil uji aktivitas antibakteri ditunjukkan pada Tabel 4, Tabel 5 dan Tabel 6 berupa rerata zona hambat dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat.

Tabel 4. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi

Sampel Uji	Rerata diameter zona hambat (mm)±SD		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>MRSA</i>	<i>Candida albicans</i>
Kontrol positif	28,34 ± 1,25	11,94 ± 0,12	32,5±3,21
Kontrol negatif	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi ekstrak 20 %	0,71± 0,16	9,72±0,92	0 ± 0
Konsentrasi ekstrak 40 %	1,53±0,30	12,79±1,24	1,17±0,08
Konsentrasi ekstrak 60 %	2,91±1,48	14,37±0,62	1,93±0,38

Tabel 5. Diameter zona hambat fraksi n-heksan daun pandan wangi

Sampel Uji	Rerata diameter zona hambat (mm)±SD		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>MRSA</i>	<i>Candida albicans</i>
Kontrol positif	27,46 ± 0,56	11,13 ± 0,31	35,91±0,83
Kontrol negatif	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 10 %	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 20 %	0,75±0,25	5,47 ± 0,73	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 30 %	4,14±0,16	6,08 ± 0,69	2,5 ± 0,5

Tabel 6. Diameter zona hambat fraksi etil asetat daun pandan wangi

Sampel Uji	Rerata diameter zona hambat (mm)±SD		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>MRSA</i>	<i>Candida albicans</i>
Kontrol positif	26, 22 ± 0,49	11,09 ± 0,68	29, 97± 0,15
Kontrol negatif	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 10 %	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 20 %	0 ± 0	1,06±0,27	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 30 %	0 ± 0	4,23±1,6	0 ± 0

Efektivitas antibakteri ekstrak daun pandan wangi dapat dinilai dengan mengukur diameter zona bening (hambat) yang mengelilingi kertas cakram. Data tabel menunjukkan bahwa ukuran zona hambat secara langsung dipengaruhi oleh konsentrasi sampel. Ekstrak etanol 70% menunjukkan nilai zona hambat terbesar terhadap bakteri *MRSA*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena sebagian besar metabolit sekunder tanaman dapat larut dalam air. Flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon, membentuk struktur esensialnya. Senyawa yang mengandung nitrogen disebut sebagai alkaloid. Atom nitrogen dalam alkaloid terutama ditemukan dalam cincin heterosiklik, yang terdiri dari atom nitrogen dan karbon yang umumnya larut dalam air (Dewanti dan Sofian, 2017). Rerata daya antibakteri ekstrak tersebut adalah 9,72±0,92 terhadap bakteri *MRSA* pada konsentrasi ekstrak 20%. Rerata 12,79±1,24 dan 14,37±0,62 ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak 40% dan 60%. Hal ini sebabkan karena sebagian besar fenolat dapat larut dalam air, namun ada beberapa yang dapat larut dalam pelarut organik atau bahkan polimer yang sangat besar dan tidak larut.

Variasi konsentrasi ekstrak etanol secara substansial tidak mengurangi pertumbuhan *Escherichia coli*. Konsentrasi ekstrak menunjukkan korelasi yang jelas dengan ukuran zona hambat yang dihasilkan. Ukuran area bening, yang dikenal sebagai zona hambat, secara langsung berkaitan dengan kerentanan bakteri terhadap bahan kimia dan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak (Tekle *et al.*, 2015). Rerata ukuran diameter zona hambat yang kecil yang terlihat pada pengujian ekstrak daun pandan terhadap jamur *C. albicans* dapat dikaitkan dengan rendahnya aktivitas senyawa dalam ekstrak terhadap patogen tersebut dan pengaruh signifikan dari pelarut ekstraksi yang digunakan (Noviyanty *et al.*, 2019).

Ekstrak etanol yang berasal dari daun pandan wangi menunjukkan potensi efek penghambatan terhadap *MRSA*. Fraksinasi adalah metode yang memungkinkan pemisahan zat berdasarkan polaritasnya. Prosedur fraksinasi melibatkan penggunaan dua pelarut dengan polaritas yang berbeda. Fraksinasi dilakukan untuk menghasilkan fraksi-fraksi terpisah, yang ditandai dengan kuantitas dan komposisinya, melalui pemisahan zat-zat berdasarkan polaritasnya. Penggunaan n-heksana dan etil asetat umumnya digunakan sebagai pelarut untuk memisahkan fraksi yang berbeda

dari komponen flavonoid (Aribowo *et al.*, 2021). Karena adanya gugus metoksi dalam komposisi kimianya, etil asetat memiliki kemampuan untuk membuat ikatan hidrogen dengan molekul lain dalam sampel. Dibandingkan dengan pelarut etanol 70%, pelarut yang mengandung etil asetat memiliki kekuatan ikatan hidrogen yang lebih lemah, yang menyebabkan berkurangnya senyawa yang berhasil diekstraksi (Syamsuddin & Karim, 2019). Ekstrak etanol berhasil menghambat pertumbuhan bakteri *MRSA*. Fraksi n-heksana cukup berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan potensi antibakteri yang lemah.

Uji statistik SPSS 22 dilakukan setelah uji mikrobiologi yang telah dijelaskan sebelumnya. Suatu hasil uji penelitian dianggap signifikan secara statistik ketika disimpulkan bahwa hasil tersebut bukan karena kebetulan, berdasarkan ambang batas probabilitas yang telah ditentukan (Setyawarno, 2016). Distribusi data yang tidak normal ditunjukkan dari sampel n-heksan, seperti yang ditunjukkan oleh hasil uji normalitas. Beberapa kelompok menunjukkan nilai *asymptotically significant* yang lebih dari 0,05. Menggunakan uji *Kruskall-Wallis* sebagai metode statistik yang canggih untuk menganalisis data yang memiliki distribusi tidak normal dan melibatkan lebih dari dua variabel dependen (Quraisy & Hasni, 2021). Uji *Kruskal-Wallis* secara konsisten menghasilkan nilai signifikansi asimtotik di bawah 0,05 untuk semua uji pelarut. Sederhananya, tingkat penghambatan tidak menunjukkan korelasi langsung dengan konsentrasi pelarut. Berdasarkan hasil *postHoc, hypothesis Summary*, perbedaan signifikan terlihat pada n-heksan 10% dengan kontrol positif. Pada sampel dengan pelarut etilasetat diperoleh distribusi data normal. Distribusi data tersebut sesuai karena hampir semua uji mikrobiologi pada pelarut etil asetat negatif atau tidak terlihat zona hambat.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji dari penelitian ini, ekstrak etanol fraksi n-heksan, etil asetat daun pandan wangi mempunyai potensi antibakteri terhadap bakteri *MRSA*. Ekstrak etanol menunjukkan potensi antibakteri terhadap bakteri *MRSA*. Fraksi n-heksana menunjukkan potensi antibakteri yang moderat terhadap *MRSA*. Fraksi etilasetat kurang berpotensi menghambat pertumbuhan *MRSA*.

Ucapan terimakasih

Penelitian ini terlaksana dari bantuan dana hibah Penelitian Dosen Pemula Dikti Tahun 2022. Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya kepada Unit UPPM Politeknik Indonusa Surakarta.

Daftar pustaka

- Adiyasa, M. R. dan Meiyanti, M. (2021). Pemanfaatan Obat Tradisional di Indonesia: Distribusi dan Faktor Demografis yang Berpengaruh. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 4(3), 130–138. doi: 10.18051/jbiomedkes.2021.v4.130-138.
- Aribowo, A. I., Lubis, C. F., Urbaningrum, L. M., Rahmawati, N. D., Anggraini, S. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Tanaman. *Jurnal Health Sains*, 2(6), 752-757.
- CLSI (2020). *CLSI M100-ED29: 2021 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition, CLSI*.
- Depkes RI (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*.
- Dewanti, N. I. dan Sofian, F. F. (2017). Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.), *Farmaka*, 15(2), 186–194.
- Faras, A. F., Wadkar, S. S. dan Ghosh, J. S. (2014). Effect of leaf extract of *Pandanus amaryllifolius* (Roxb.) on growth of *Escherichia coli* and *Micrococcus (Staphylococcus) aureus*, *International Food Research Journal*, 21(1), 421–423.
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W. and Purwanti, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, Edisi Khusus (Rakerda IAI Jateng), 10–20. doi: 10.23917/pharmacon.v0i0.10108.
- Handoyo, D. L. Y. (2020). The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle), *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41. doi: 10.35316/tinctura.v2i1.1546.
- Hardianti, S. Chiuman, L., Ginting, C. N., Adrian, A. (2022) Analyzing Ethanol's Antioxidant Extract of Pandanus Leaves Through Dpph Method, *Interdisciplinary Social Studies*, 1(5), 610–616. doi: 10.55324/iss.v1i5.128.
- Islamiyati, R. dan Pujiastuti, E. (2020). Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 169–174. doi: 10.31596/cjp.v4i2.110.
- Kemenkes RI (2017). Farmakope Herbal Indonesia. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*, II, 546. doi: 10.1201/b12934-13.
- Kosasi, C., Lolo, W. A. dan Sudewi, S. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta Identifikasi secara Biokimia, *Pharmacon*, 8(2), p. 351. doi: 10.35799/pha.8.2019.29301.
- Kurniawati E. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro, *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193–199.
- Mardiyarningsih, A. dan Aini, R. (2014). Pengembangan Potensi Ekstrak Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) sebagai Agen Antibakteri, *Pharmaciana*, 4(2), 185–192. doi: 10.12928/pharmaciana.v4i2.1577.
- Nazaruddin, I. dan Fatmaningrum, E. (2021). Analisis Statistik dengan SPSS, *Analisis Statistik Ekonomi dan Bisnis dengan SPSS*, 100–105.
- Nofikasari, I., Rufaida A., Aqmarina, C. D., Failasofia, F., Fauzia, A. R., Handajani, J. (2017). Efek Aplikasi Topikal Gel Ekstrak Pandan Wangi terhadap Penyembuhan Luka Gingiva, *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(2), 53. doi: 10.22146/majkedgiind.9896.
- Noviyanty, A., Salingkat, C. A. dan Syamsiar, S. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Ekstraksi dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 5(3), 271–279. doi: 10.22487/kovalen.2019.v5.i3.14037.
- Oktavia, S. N., Wahyuningsih, E., Andasari, S. D., dan Normaidah (2020). Skrining Fitokimia Dari Infusa dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers), *Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), 2685–1229.
- Puspita, A. A. (2012). Performa Flokulasi Bioflokulan DYT Disiapkan Melalui Ekstraksi Pada Beragam

- Tingkat Keasaman dan Kekuatan Ion Terhadap Turbiditas Larutan Kaolin. *Skripsi*, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.
- Quraisy, A. dan Hasni, N. (2021). Analisis Kruskal-Wallis terhadap Kemampuan Numerik Siswa, *VARIANSI: Journal of Statistics and Its Application on Teaching and Research*, 3(3), 156-161. doi: 10.35580/variansiunm29957.
- Sagita, D., Pratama, S. dan Hastuti (2020). Uji Resistensi Antibiotik terhadap Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Ruang Intensive Care Unit (ICU) Rumah Sakit "Y" Kota Jambi, *Journal of Healthcare Technology And Medicine*, 6(1), 301-307.
- Setyawarno, D. (2016) 'Panduan Statistik Terapan Untuk Penelitian Pendidikan: Analisis Data Penelitian Dalam Bidang Pendidikan Dengan Aplikasi SPSS Versi 22', *Pendidikan IPA FMIPA UNY*, p. 116.
- Sophia, A. dan Suraini (2022). Bioma : Jurnal Biologi Makassar (On Line) Efektivitas Aquabidest dan Limbah Air AC Sebagai Pelarut Media SDA Untuk Pertumbuhan *Candida albicans*, *Jurnal Biologi Makassar*, 8(1), 16-22.
- Syamsuddin, B. dan Karim, H. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Klika Kayu Jawa (*Lannea coromendelica*) Effect of The Type of Solvent on Contents of Secondary Metabolite Compounds of Kayu Jawa Klika (*Lannea coromendelica*), *Jurnal Sainsmat*, VIII(2), pp. 19-27.
- Tekle, A., Belay, A., Kelem, K., Yohanes, M., Wodajo, B., Tesfaye, Y. (2015). Nutritional Profile of *Moringa stenopetala* Species Samples Collected from Different Places in Ethiopia, *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 5(5), 1100-1101. doi: 10.9734/ejnf/2015/21263.
- Tias, P. D. A. 2019. (2019). Aktivitas Antifungi Seduhan Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Rxb .) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* dengan Metode Sumuran. *Skripsi*. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang, Malang
- Widyastriana, D. M. D., Cahyaningsih, E. dan Wardani, I. G. A. A. K. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tanaman Obat Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Antibacterial Activity of Medicinal Plants Extract against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Usadha: Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, 1(1), 30-37.
- Wulandari, S. R. A. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus epidermis* Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* Linn.) dengan Fase Minyak Isopropil Mirystate. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri, Malang