

Uji Aktivitas Antioksidan dan *Anti-aging Body Butter* dengan Bahan Aktif Ekstrak Daun Kelor (Antioxidant and Anti-aging activity of Moringa Leaves Extract Body Butter)

NUNUK ARIES NURULITA^{1,2,*}, ELZA SUNDHANI^{1,2}, IRMA AMALIA¹, FIFI RAHMAWATI^{1,2}
NINA NURHAYATI DIAN UTAMI¹

¹Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jawa tengah, Indonesia

²Cancer and Stem Cell Research Center, Universitas Muhammadiyah Purwokerto,
Jawa Tengah, Indonesia

Diterima 20 Juli 2018, Disetujui 10 September 2018

Abstrak: Daun Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa fenol seperti alkaloid, tannin, saponin dan flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan dan *anti-aging*. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas antioksidan dan *anti-aging* daun Kelor serta membuat formulasi *body butter* dari ekstrak daun kelor. Proses ekstraksi daun Kelor metode maserasi dengan pelarut etanol 70% perbandingan 1:10 kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode *beta caroten bleaching* (BCB) dan *anti-aging* selanjutnya dilakukan formulasi *body butter* dengan bahan aktif ekstrak daun Kelor 0,5%. Hasil penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak daun Kelor menunjukkan kadar yang dihasilkan yaitu sebesar 10,45 mgGAE/g ekstrak untuk fenolik total dan 5,53% untuk flavonoid total. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas penghambatan proses pemucatan beta karoten (inhibitor BCB) dan inhibitor enzim kolagenase dengan persentase penghambatan sebesar 47%. *Body butter* ekstrak daun Kelor mempunyai potensi sebagai *anti-aging* melalui mekanisme antioksidan dan inhibitor kolagenase. *Body butter* ekstrak daun Kelor mempunyai penampakan organoleptis yang sudah baik dan menarik. Namun sifat fisik dari *moringa body butter* masih memerlukan optimasi agar lebih baik dan memenuhi standar yang telah ditetapkan.

Kata kunci: *Moringa oleifera*, *anti-aging*, BCB, *inhibitor collagenase*, *body butter*.

Abstract: Moringa leaf (*Moringa oleifera*) was one of plants that contain phenol compounds such as alkaloid, tannin, saponin and flavonoid that were useful as a antioxidant and anti-aging. The aim of this research was to prove antioxidant and anti aging's activity of Moringa leaf. The extraction process of Moringa leaf using maseration method with ethanol solvent 70% ratio 1:10, then the antioxidant properties determinate using beta carotene bleaching (BCB) and anti-aging's activity test was done, after that formulated the body butter with active ingredient of Moringa leaf extract 0.5%. Moringa extract contains total phenolic 10.45 mg GAE/g extract and 5.53% of total flavonoid. The result showed that Moringa leaf extract had inhibition of beta carotene bleaching properties as shown by BCB results. Moringa leaf extract inhibit the collagenase activity until 47.25% at concentration of 1600 ppm. Moringa leaf extract body butter has high potency of anti-aging through antioxidant and collagenase inhibitor mechanism. Moringa body butter had good organoleptic properties. However the physical properties of moringa body butter should be optimized its composition to get the better one.

Keywords: *Moringa oleifera*, *anti-aging*, BCB, *inhibitor collagenase*, *body butter*.

*Penulis korespondensi: Hp. 082133709479
email: nunukariesnurulita@ump.ac.id, nunuknurulita@yahoo.com

PENDAHULUAN

ANTIOKSIDAN sangat bermanfaat dalam pencegah penuaan dan penyakit degeneratif. Penuaan adalah proses yang akan terjadi pada semua makhluk hidup yang dapat menyebabkan perubahan progresif pada seluruh organ termasuk kulit. Pada sebagian orang proses menua terjadi sesuai dengan usianya namun adapula yang terjadi lebih cepat atau biasa disebut penuaan dini, hal ini dapat disebabkan karena akumulasi radikal bebas seperti paparan sinar matahari rokok dan polusi udara.

Dari data WHO menyebutkan bahwa rokok dapat membunuh 7 juta orang tiap tahunnya, dimana 6 juta merupakan perokok aktif dan sisanya termasuk perokok pasif(1). Kontribusi radikal bebas terhadap penuaan terjadi sejak awal dan semakin meningkat dengan bertambahnya usia. Jika jumlah radikal bebas melampaui efek protektif antioksidan akan menyebabkan proses penuaan serta penyakit degeneratif. Menurut WHO penyebab kematian terbesar saat ini adalah karena adanya penyakit degeneratif.

Tubuh menghasilkan senyawa antioksidan, namun antioksidan yang secara alami dihasilkan oleh tubuh jumlahnya terbatas untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya. Oleh karena itu, dibutuhkan asupan antioksidan dari luar tubuh. Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami. Kebanyakan sumber antioksidan alami ialah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan(2).

Salah satu tumbuhan obat yang berpotensi sebagai antioksidan adalah Kelor (*Moringaoleifera*). Daun Kelor mengandung β -sitosterol 90 mg/g, total fenolik 8 μ g/mL dan flavonoid 27 μ g/mL, yang mana materi tersebut diduga berhubungan dengan aktivitas antioksidan(3).

Penelitian sebelumnya tentang ekstraksi daun Kelor menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dalam proses *in vivo* dan *in vitro*(4). Kandungan antioksidan pada daun kelor juga telah dibuktikan dengan menggunakan uji FRAP dengan hasil 65,53 μ M Fe₂/μg(5). Dari data tersebut menguatkan penelitian ini untuk membuat sediaan kosmetik yang berbahan aktif ekstrak kelor.

Sediaan kosmetika untuk *anti-aging* yang paling banyak terdapat di pasaran adalah dalam bentuk *lotion* dan krim. Kedua sediaan tersebut mempunyai kelemahan dalam mempertahankan status hidrasi kulit, kemampuan melembutkan dan melindungi kulit dari pengaruh luar. *Body butter* adalah sediaan yang mempunyai kelebihan-kelebihan tersebut.

Kemampuan *body butter* dalam menghidrasi kulit, melembabkan dan melindungi dari pengaruh luar ikut memberi kontribusi sediaan sebagai *anti-aging*.

Penelitian ini dilakukan untuk memperkuat data ilmiah daun kelor sebagai *anti-aging* yaitu dengan uji aktivitas penghambatan β -caroten bleaching dan inhibitor kolagenase. Selain itu juga dilakukan pengujian kualitas *body butter* dengan bahan aktif ekstrak Kelor.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan-bahan yang digunakan meliputi tanaman Kelor (*Moringa oleifera*), aseton, *beta carotene*, asam linoleat, etanol 70%, kloroform, metanol, butanol, Asam asetat glasial, etil asetat, akuadest, lempeng KLT, HCl 25%, kapas, pereaksi *Lieberman-Buchcard*, pereaksi *dragendroff*, pereaksi FeCl₃ 1%, pereaksi AlCl₃, *Collagenase Assay Kit*, Asam stearat, setil alkohol, gliserin, *oleum cocos*, *oleum olivarum*, TEA, BHT, nipagin, nipasol, *oleum cacao*.

Alat. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator* (IKA®10 Basic), timbangan analitik, seperangkat alat maserasi, *microplate 96 well plate* (IWAKI), inkubator, alat uji daya lekat dan daya sebar, alat-alat gelas laboratorium (erlenmeyer, gelas beker, tabung reaksi, gelas ukur, pipet volume, pipet ukur, batang pengaduk, gelas arloji dan bunsen), pro pipet, rak tabung, stamper dan mortir, kertas saring, vial dan penutup, mikropipet, termometer, pinset, pH meter, viskometer dan spektrofotometer UV-Vis.

METODE. Preparasi Sampel. Sampel yang digunakan yaitu daun kelor diperoleh dari desa Toyareja, kec. Purbalingga, kab. Purbalingga. Daun kelor yang sudah terkumpul dilakukan sortasi basah untuk mengurangi bahan asing yang masih terbawa, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dilakukan pengeringan sampai diperoleh sampel kering, kemudian dibubukkan menggunakan blender dan diayak sehingga dihasilkan serbuk yang siap digunakan untuk pembuatan ekstrak.

Ekstraksi. Ekstrak dari daun Kelor dibuat dengan maserasi, sebanyak 200 gram serbuk simplisia yang telah kering dimasukkan dalam wadah toples, ditambahkan dengan etanol 70%, ditutup dan dibiarkan selama dua hari terlindung dari sinar matahari. Kemudian disaring sehingga didapatkan maserat. Ampas dimaserasi lagi dengan menggunakan metode yang sama sampai didapat maaserat yang jernih. Kemudian uapkan maserat menggunakan vakum evaporator suhu 40 °C sampai didapat ekstrak yang kental.

Skrining Fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan terhadap metabolit sekunder alkaloid, saponin, flavonoid dan tannin yang dideteksi menggunakan pereaksi dragendroff, AlCl_3 , FeCl_3 dan Liberman-Burchad. Metode yang digunakan adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT dilakukan dengan fase diam silica gel GF₂₅₄ dan dilakukan optimasi fase gerak.

Penentuan Kadar Fenolik Total. 1. Penentuan panjang gelombang maksimum. Sebanyak 0,5 mL larutan stok asam galat 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ditambahkan dengan 2 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 4 mL natrium karbonat 1 M. Lalu baca absorbansi pada panjang gelombang 200-800 nm.

2. Penentuan *operating time* (OT). Sebanyak 0,5 mL larutan stok asam galat 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ditambahkan dengan 2 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 4 mL natrium karbonat 1 M. lalu baca absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Baca absorbansi larutan setiap 1 menit selama 60 menit.

3. Penentuan kurva baku asam galat. Larutan asam galat dengan konsentrasi 10, 20, 40, 60 dan 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diambil sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan dengan 2 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 4 mL natrium karbonat 1 M. Diamkan selama *operating time* lalu baca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

4. Penentuan kadar fenolik total. Melarutkan 10 mg sampel ekstrak kental daun kelor dilarutkan dengan etanol 70% ad 10 mL, didapat konsentrasi sampel 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kemudian diambil 0,5 mL sampel ditambahkan dengan 2 mL reagen Folin-Ciocalteu dan 4 mL natrium karbonat 1 M. Diamkan selama *operating time* lalu baca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Lakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Penentuan Kadar Flavonoid Total. 1. Penentuan panjang gelombang maksimum. Sebanyak 1 mL larutan stok kuersetin 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10 % dan 8 mL asam asetat 5%. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 330-450 nm. 2. Penentuan *operating time* (OT). Sebanyak 1 mL larutan stok kuersetin 100 ppm ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Absorbansi dibaca setiap 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil. 3. Penentuan kurva baku kuersetin. Larutan kuersetin dengan konsentrasi 60, 70, 80, 90 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diambil sebanyak 1 mL kemudian tambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Diamkan selama *operating time* Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. 4. Penetapan kadar flavonoid total. Sampel ekstrak kental daun kelor 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL

kemudian tambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Diamkan selama *operating time*, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Lakukan replikasi sebanyak 3 kali.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Beta Caroten Bleaching (BCB). Buatlah emulsi beta karoten - asam linoleat dengan cara 0,5 mg Beta karoten dilarutkan dengan 1 mL kloroform. Kemudian ditambahkan 25 μL asam linoleat dan 200 mg Tween 40 lalu cukupkan dengan aquadest hingga 100 mL. kemudian campuran divortex hingga didapat larutan yang transparan. Larutan sampel dengan masing-masing konsentrasi (250, 300, 350, 400 dan 450 $\mu\text{g}/\text{mL}$) diambil 0,5 ml kemudian ditambah dengan 1,5 ml emulsi beta carotene-asam linoleat. Campuran selanjutnya diinkubasi pada suhu 50 °C selama 90 menit, setiap interval 30 menit dibaca serapannya. Serapan dibaca dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 413 nm. Untuk kontrol positif digunakan kuersetin, dan kontrol negatif digunakan 2 mL emulsi beta karoten ditambah 0,2 mL etanol.

Uji Aktivitas Anti Aging dengan Inhibitor Kolagenase. 20 μL larutan sampel dan ditambahkan 10 μL Collagenase (0,35 U/mL) dan ditambah dengan 50 μL Collagenase Assay Buffer ke dalam mikroplate 96 well. 1,10-Phenantrolin digunakan sebagai inhibitor control untuk pembandingan. 90 μL larutan buffer sebagai blanko dan 70 μL larutan buffer yang ditambah dengan 10 μL Collagenase sebagai kontrol negatif. Inkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C, kemudian tambahkan substrat sebanyak 20 μL dan ukur serapan pada panjang gelombang 435 nm.

Formulasi Body Butter. Fase minyak (asam stearat, setil alkohol, oleum cacao, oleum cocos) ditambahkan dengan nipasol kemudian masukkan kedalam cawan dan panaskan diatas waterbath dengan suhu dibawah 70 °C sampai lebur. Fase air (sebagian trietanolamin dan gliserin) ditambah nipagin dan sebagian aquadest dimasukkan kedalam cawan kemudian dileburkan dengan suhu yang sama. Ekstrak daun kelor ditambah dengan TEA dan gliserin, kemudian dicampur sampai homogen. Campuran ekstrak dituang ke dalam fase air, kemudian ditambah dengan oleum olivarum. Campuran ini segera dimasukkan ke dalam fase minyak yang sudah lebur sempurna. BHT ditambahkan ke dalam fase air dan kemudian dicampurkan ke dalam fase minyak dan dilakukan pengadukan dengan kecepatan tinggi sambil ditambahkan air. Pengadukan dilakukan sampai suhu campuran turun dan terbentuk masa yang kental, lembut dan homogen.

Evaluasi Sediaan. Evaluasi sediaan yang dilakukan meliputi:

1. Uji organoleptis. Dilakukan pengamatan visual terhadap bau, warna dan bentuk *body butter* selama 7 hari. 2. Pemeriksaan homogenitas. Pengujian dilakukan dengan mengoleskan *body butter* pada *obyek glass*. Hasil yang homogen tidak menghasilkan butiran yang kasar. 3. Uji daya sebar. Ditimbang sebanyak 0,5 gram sampel kemudian diletakkan pada kaca bulat dan ditunggu selama 1 menit. Diameter sebar diukur. Selanjutnya ditambah beban 50 gram, 100 gram, 150 gram dan diamkan selama 1 menit lalu diameter diukur. 4. Uji daya lekat. Sampel diletakkan secukupnya diatas *object glass* yang sudah dipasang pada alat uji dan letakkan *object glass* lain diatasnya, lalu ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit, kemudian beban seberat 80 gram dilepaskan dan dicatat waktunya hingga *object glass* terlepas. 5. Pengukuran pH. Dilakukan pengukuran pH sediaan *body butter* dengan menggunakan stik pH. 6. Pengukuran viskositas. Ditimbang sebanyak 15 gram *body butter* diukur viskositasnya dengan menggunakan viscometer menggunakan kecepatan dan spindle yang sesuai. 7. Uji stabilitas dengan *free-thraw cycling*. *Body butter* disimpan pada suhu 4 °C selama 24 jam dan pada suhu 45 °C selama 24 jam (siklus), pengujian dilakukan sebanyak 3 siklus dan diamati perunahan fisik dari sediaan dari awal sampai akhir siklus yang meliputi organoleptis, viskositas, pH, daya sebar dan daya lekat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

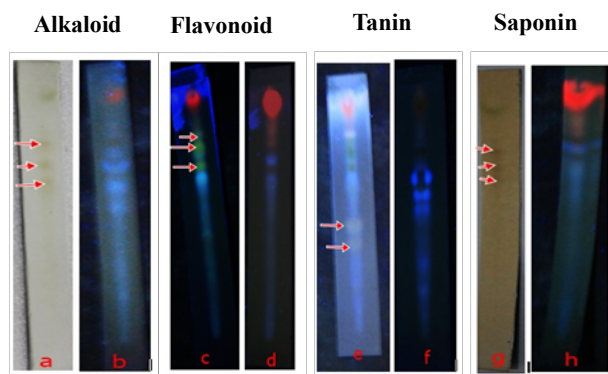
Preparasi Sampel. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Kelor dengan spesies *Moringa oleifera* L. Pada penelitian ini digunakan daun Kelor sebanyak 2 kg. Bobot simplisia yang dihasilkan setelah melalui tahapan pembuatan simplisia adalah 200 mg yang berwarna hijau dan bertekstur halus.

Ekstraksi. Proses ekstraksi daun kelor menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi tanpa pemanasan sehingga dapat mencegah kerusakan komponen kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan. Metode ini cocok untuk mengekstrak zat aktif yang berpotensi sebagai antioksidan yang sebagian besar merupakan komponen kimia yang tidak tahan terhadap panas. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol. Etanol yang digunakan yaitu etanol 70%. Pelarut etanol dipilih untuk proses ekstraksi karena dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder(6). Selain itu dibanding pelarut lain, etanol mempunyai sifat mudah menguap sehingga pelarut pada ekstrak mudah diuapkan tanpa merusak kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak.

Maserasi dilakukan dengan melarutkan 200 gram serbuk daun Kelor dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter selama 3 hari dan hasil ekstraksi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, kemudian diuapkan sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 75,42 gram dan diperoleh rendemen ekstrak daun kelor sebesar 37,1%.

Skrining Fitokimia. Ekstrak daun kelor mengandung metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Dimana flavonoid merupakan senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan. Hasil penapisan fitokimia ditampilkan pada Gambar 1 dan Tabel 1 dibawah ini.

Penetapan Fenolik Total. Penetapan fenolik total bertujuan untuk mengetahui jumlah fenol yang terdapat pada sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Metode yang digunakan yaitu metode Folin Ciocalteu dikembangkan oleh Singleton dan Rossi. Dimana merupakan metode paling umum digunakan untuk menetapkan kadar fenolik total dalam tanaman. Prinsip dari metode ini adalah dalam suasana basa folin dapat bereaksi kolorimetri dimana gugus hidroksi pada senyawa fenolik akan bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru dan hasil yang diperoleh signifikan dengan ion fenolat. Pekatnya warna biru setara dengan konsentrasi ion fenolik yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi



Gambar 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak daun kelor dengan fase gerak B:A:A (3:1:1) dan fase diam silika gel GF254. (a) dan (g) deteksi pada sinar tampak, (b), (c), (d), (e), (f) dan (h) deteksi pada UV366.

senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolik yang ditandai dengan semakin pekatnya warna biru yang dihasilkan(7).

Sebagai standar pada pengukuran total fenolik digunakan asam galat. Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran karena asam galat merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia.

Golongan Senyawa	Pereaksi	Warna pada Sinar Tampak	Warna pada UV ₃₆₆	Warna pada UV ₂₅₄	Kesimpulan
Alkaloid	Dragendroff	Coklat orange	Biru	Hitam	+
Flavonoid	AlCl ₃		Kuning terang	Hitam	+
Tannin	FeCl ₃	Abu-abu kecoklatan	Biru	Hitam	+
Saponin	LB		Merah redup	Hitam	+

tanaman. Kandungan fenolik asam organik ini bersifat murni dan stabil. Asam galat tergolong asam fenolik sederhana yang merupakan turunan dari asam hidroksi benzoate(8).

Analisis kandungan fenolik total dilakukan pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh yaitu 772 nm. Hasil OT diperoleh pada waktu 31 menit nilai absorbansi yang diperoleh telah stabil, berarti reaksi telah berjalan sempurna. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat dibuat kurva kalibrasi. Persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu $y=0,0048x + 0,1707$ dengan koefisien korelasi (R²) 0,9884. Penetapan kadar fenol dari ekstrak etanol daun kelor dilakukan dengan cara 3x replikasi dan dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak daun Kelor dinyatakan positif mengandung fenolik total dengan kadar sebesar $16,13 \pm 0,306$ artinya dalam setiap gram ekstrak daun kelor terdapat fenolik yang setara dengan $16,13 \pm 0,306$ asam galat. Penetapan total fenolik merupakan dasar dilakukannya pengujian aktivitas antioksidan. Hal ini disebabkan karena sebagian besar antioksidan dalam bahan tanaman merupakan senyawa polifenol. Karena diketahui bahwa senyawa fenolik dapat mencegah

terjadinya oksidasi(7).

Penetapan Flavonoid Total. Penetapan flavonoid total bertujuan untuk mengetahui seberapa besar flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun kelor, hasilnya berupa nilai kadar flavonoid total dalam sampel. Prinsip dari metode ini adalah pembentukan kompleks yang stabil antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol⁽⁹⁾.

Pengukuran *operating time* diperoleh pada menit ke-14 dan Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan adalah 412 nm. Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y=0,00543x + 0,05732$ dengan nilai koefisien korelasi (R²) 0,97248. Penetapan kadar flavonoid dari ekstrak etanol daun kelor dilakukan dengan replikasi 3x dan dilihat pada Tabel 3.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Kelor dapat dinyatakan positif mengandung flavonoid dengan kadar total yang dihasilkan adalah $5,53 \pm 0,551$ yang artinya pada 100 gram ekstrak daun kelor mengandung 5,53 gram senyawa flavonoid, dimana flavonoid ini merupakan suatu senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan(10).

Tabel 2. Hasil penetapan kadar fenol total ekstrak daun kelor.

Replikasi	Absorbansi	Kandungan Fenolik (%b/b)	Rata-rata (%b/b) ±SD
1	0.549	15,8	16,13 ± 0,306
2	0.558	16,2	
3	0.563	16,4	

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Beta Caroten Bleaching (BCB). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode penghambatan degradasi beta carotene pada penelitian ini menggunakan alat spektrofotometri visible. Kontrol positif pada penelitian ini adalah kuersetin.

Ekstrak etanol daun Kelor dapat menghambat proses pemucatan beta karoten. Semakin tinggi

konsentrasi penghambatan pemucatannya semakin besar. IC₅₀ ekstrak daun kelor yang di uji menggunakan metode DPPH adalah 97,484 µg/ml Semakin kecil IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan kuat apabila IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL. Apabila lebih dari 200 µg/mL maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai antioksidan(11). Selain itu pada

penelitian(5) juga terbukti bahwa ekstrak etanol daun Kelor memiliki aktivitas antioksidan yang dilakukan dengan menggunakan metode FRAP dengan larutan pembanding asam askorbat. Hasil

penelitian diperlihatkan pada Gambar 2.

Ekstrak daun Kelor dan batang Kelor mengandung senyawa polifenol, alkaloid, flavonoid, dan tannin yang memiliki efek sebagai sitoprotektif melalui induksi

Tabel 3. Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun kelor.

Replikasi	Absorbansi	Kandungan Flavonoid Total (% b/b)	Rata-rata (% b/b) ±SD
1	0,321	4,9	5,53 ± 0,551
2	0,380	5,9	
3	0,377	5,8	

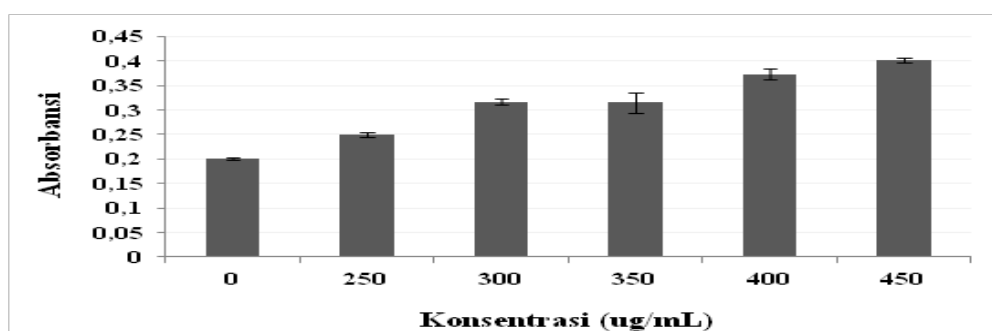
hydrogen peroksida (H_2O_2) terhadap sel Fibroblast NIH3T3 dan memiliki aktivitas perlindungan terhadap stres akut dan kronis dibandingkan dengan vitamin C(12). Semakin kecil IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan kuat apabila IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$. Apabila lebih dari 200 $\mu\text{g/mL}$ maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai antioksidan(11).

Uji Aktivitas Anti Aging dengan Inhibitor Kolagenase. Hasil aktivitas anti-aging pada ekstrak daun Kelor diperoleh penghambatan (%) aktivitas enzim kolagenase oleh adanya inhibitor. Yang dapat dilihat pada Gambar 3 dibawah ini.

Ekstrak daun Kelor pada konsentrasi 1600 $\mu\text{g/mL}$ memberikan hasil penghambatan yang paling tinggi yaitu 47,25%. Aktivitas penghambatan enzim

kolagenase pada daun kelor diduga dipengaruhi oleh kandungan senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan dan memberikan efek sinergis terhadap penghambatan enzim kolagenase dalam proses penuaan pada kulit(13). Kolagenase merupakan enzim golongan metalloproteinase (MMP) yang memecah kolagen dan membantu dalam degradasi dari matriks ekstraseluler. Karena MMP merupakan inisiator terjadinya degradasi kolagen, enzim tersebut menjadi indikator proses penuaan kulit karena paparan UV.

Evaluasi Sediaan. Pengamatan organoleptis sediaan “Moringa Body Butter” menunjukkan bentuk yang semi padat, bau khas oleum cacao, dan warna hijau muda. Bau sediaan ini masih kurang menarik sehingga masih perlu penambahan corigen odoris untuk meningkatkan daya tarik. Konsistensi sediaan



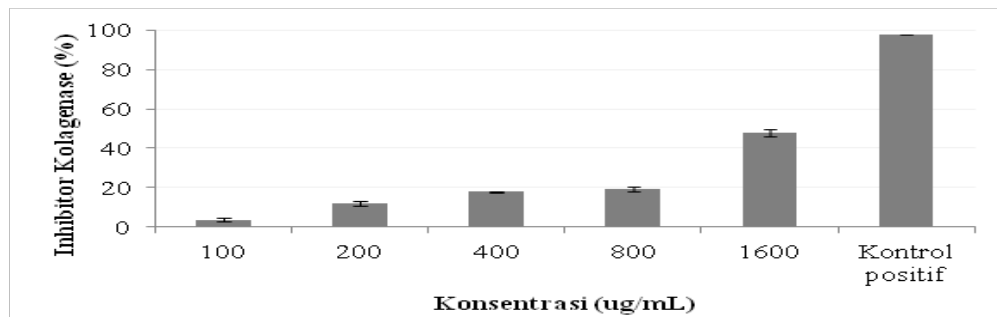
Gambar 2. Ekstrak daun kelor dapat menghambat pemucatan warna pada beta karoten (*beta carotene bleaching*). Penelitian dilakukan dengan 2 (dua) kali pengulangan.

homogen lembut dan mudah dioleskan. Warna sediaan hijau muda, sudah menarik dan tidak menyebabkan perubahan warna pada saat dioleskan.

Pegujian derajat keasaman menunjukkan pH 7 sehingga tidak berpotensi menimbulkan iritasi pada kulit. Viskositas sediaan mengalami penurunan seiring dengan lama penyimpanan. Konsistensi sediaan tersebut semakin lama akan semakin encer, hal tersebut akan berpengaruh terhadap hasil untuk daya lekat dan daya sebar, dimana apabila viskositas semakin kecil maka daya sebar akan semakin lebar

dan untuk daya lekat akan semakin cepat. Untuk memperbaiki sifat fisik ini diperlukan optimasi komposisi sediaan sehingga diperoleh sediaan yang lebih baik. Pengujian daya sebar dan daya lekat masih menunjukkan hasil yang kurang baik sehingga juga memerlukan modifikasi komposisi sediaan.

Uji *freeze-thaw cycling* dilakukan untuk melihat pengaruh suhu terhadap sediaan *body butter* selama penyimpanan pada dua suhu yang berbeda yaitu kondisi beku (*freeze*) pada suhu 4 °C dan meleleh (*thaw*) pada suhu 45 °C.



Gambar 3. Ekstrak daun kelor dapat menghambat aktivitas kolagenase sebesar 47% pada konsentrasi 1600 ppm. Control positif menunjukkan penghambatan sebesar 98%.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji ekstrak daun Kelor dapat berpotensi sebagai antioksidan dan anti-aging dengan menghambat inhibitor kolagenase hampir 50% sehingga sediaan *body butter* yang

dihasilkan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya penuaan dini. Sediaan *moringa body butter* masih memerlukan optimasi komposisi sediaan agar diperoleh sediaan yang lebih baik.

Tabel 4. Hasil uji stabilitas sediaan *Moringa Body Butter*.

No.	Parameter	Formulasi		
		Rep 1	Rep 2	Rep 3
1.	Organoleptis			
	a. Bentuk	Semi padat	Semi padat	Semi padat
	b. Bau	Oleum Cacao	Oleum Cacao	Oleum Cacao
	c. Warna	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda
2.	Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen
3.	pH	7	7	7
	Viskositas	9.230 cP	9.070 cP	9.550 cP
4.	Siklus I	6.200 cP	6.550 cP	6.710 cP
	Siklus II	4.950 cP	4.180 cP	4.240 cP
	Siklus III	2.200 cP	2.630 cP	2.820 cP
		3,07	2,93	2,87
5.	Daya Lekat (detik)	2,76	2,44	2,21
		2,57	1,97	1,99
		1,85	1,27	1,39
	Daya Sebar (cm)	3,75	3,69	3,94
6.	Siklus I	3,85	3,9	4,17
	Siklus II	4,64	4,19	4,23
	Siklus III	5,27	4,62	4,42

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. WHO report on the global tobacco epidemic 2017: monitoring tobacco use and prevention policies, Geneva, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2017.
2. Toripah S, Abidjulu J, dan Wehantouw F. Aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Jurnal Ilmiah Farmasi. 2016. 3(4):2303-2493.
3. Hasanah U, Yusriyadi dan Khumaidi A. Formulasi gel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Online Journal of Natural Science. 2017. 6(1):46–57
4. Putra I, Dharmayudha A, dan Sudimartini, L. Identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) di Bali. Indonesia Medicus Veterinus. 2016. 5(5):464-473.
5. Maryam S, Baits M dan Nadia A. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Jurnal Fitofarmaka Indonesia. 2016. 2(2).
6. Darwis D. Teknik dasar laboratorium dalam penelitian senyawa bahan alam hayati, workshop pengembangan sumber daya manusia dalam bidang kimia organik bahan alam hayati. FMIPA Universitas Andalas. Padang. 2000.
7. Sari A. dan Ayuchrcaria N. Penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak beras hitam (*Oryza sativa* L.) dari Kalimantan Selatan. Jurnal Ilmiah Ibnu sina. 2017. 2(2):327-335.
8. Hasim, Falah S. dan Dewi L. Effect of boiled Cassava leaves (*Manihot esculenta* Carntz.) on total phenolic, flavonoid and its antioxidant activity. Current bhiocemistry. 2016.3(3):116-127.
9. Azizah D, Kumolowati E dan Faramayuda F. Penetapan kadar flavonoid metode $AlCl_3$ pada ekstrak methanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). Kartika jurnal ilmiah farmasi. 2014. 2 (2):2354-6565.
10. Rohyani I, Aryanti E dan Suropto. Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di Pulau Lombok. 2015. 1(2):2407-8050.
11. Yuliani N dan Dienina D. Uji aktivitas antioksidan infusa daun Kelor *Moringa oleifera* L. dengan metode 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Jurnal info kesehatan. 2015. 14(2).
12. Ghalyati DA. Uji aktivitas sitoprotektif ekstrak daun dan batang Kelor (*Moringa oleifera* L.) pada induksi H_2O_2 terhadap sel fibroblast NH3T3. Skripsi. Purwokerto. Fakultas Farmasi: Universitas Muhammadiyah Purwokerto. 2017.
13. Sugiartini N dan Nining E. Formulasi krim ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Sediaan Anti-aging. Periodical of Dermatology and Venereology. 2017. 29(1).

Evaluasi Efek Samping Obat Kemoterapi terhadap *Quality of Life* (QoL) Pasien Kanker Payudara di Rumah Sakit X Jakarta

(Evaluation of Drug Side Effects Chemotherapy on Quality of Life (QoL) Breast Cancer Patients at Hospital X In Jakarta)

SONDANG KHAIRANI*, SESILIA A KEBAN, MEYKE AFRIANTY

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta 12640, Indonesia

Diterima 7 Februari 2019, Disetujui 22 Maret 2019

Abstrak: Kanker payudara merupakan jenis kanker nomor satu ditemui pada wanita di dunia. Penyebab terbanyak disebabkan oleh faktor genetik dan faktor hormonal. Salah satu pengobatan kanker dengan kemoterapi. Obat kemoterapi aktif pada sel yang sedang membelah dan bereproduksi, namun sel yang normal tidak tertutup kemungkinan akan terpengaruh kemoterapi dan muncul efek samping dari obat kemoterapi yang mempengaruhi kualitas hidup. Tujuan penelitian yaitu mengevaluasi efek samping obat kemoterapi terhadap kualitas hidup pasien kanker payudara. Teknik sampling prospektif observasional terhadap pasien kanker payudara yang sudah menyelesaikan siklus kemoterapi periode September 2017 sampai April 2018 dengan analisis deskriptif dan statistik dengan melihat korelasi antara efek samping obat dan Quality of Life (QoL). Hasil penelitian yaitu terdapat efek samping kelelahan (100%), mual (67,5%), muntah (60%), tidak ada nafsu makan (63,75%), demam (42,5%), sakit pada persendian (43,75%), diare (16,25%), sulit menelan (16,25%), alergi (5%), gatal (1,25%), ada luka dimulut (3,75%), bengkak tangan kanan (1,25%), sembelit (3,75%). Hasil QoL yaitu domain fisik 6,2%; psikologi 5,3%; sosial 4,9%; spiritual 6,8%. Hasil uji sperman menunjukkan tidak ada korelasi antara efek samping kemoterapi dan QoL $P > 0,05$. Penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara efek samping obat kemoterapi dan QoL pada pasien kanker payudara.

Kata kunci: Efek samping obat kemoterapi, *quality of life* (QoL), kanker payudara.

Abstract: The breast cancer is the number one cancer type discovered at women in the world. Most causes are genetic factors and hormonal factors. One cancer treatments with chemotherapy. Chemotherapy drugs active in cells dividing and reproducing, but cells normally to be affected by chemotherapy and side effects from chemotherapy drugs affect quality of life. The aim of the study to evaluate side effects of chemotherapy drugs on the quality of life of breast cancer patients. Sampling technique observational prospective breast cancer patients with completed the chemotherapy cycle from September 2017 to April 2018 with descriptive analysis and statistics by looking correlation between drug side effects and Quality of Life (QoL). Results of the study were side effects of fatigue 100%, nausea 67.5%, vomiting 60%, no appetite 63.75%, fever 42.5%, joint pain 43.75%, diarrhea 16.25%, difficulty swallowing 16,25%, allergies 5%, itching 1,25%, mouth sores 3,75%, swollen right hand 1.25%, constipation 3.75%. QoL results are physical 6.2%, psychology 5.3%, social 4.9%, spiritual 6.8%. Results of Sperm test showed no correlation between the side effects of chemotherapy and QoL $P > 0.05$. This study shows that there is no relationship between the side effects drug chemotherapy and QoL in breast cancer patients.

Keywords: Drug side effect chemotherapy, quality of life (QoL), breast cancer.

* Penulis korespondensi, Hp. 081365203071
e-mail sondang.khairani@univpancasila.ac.id

PENDAHULUAN

KANKER payudara merupakan jenis kanker yang sering ditemui pada wanita didunia. Insiden kanker payudara di Asia berdasarkan *Age Standardized Ratio* (ASR) menduduki tempat kedua setelah kanker serviks(1). Kementerian Kesehatan Indonesia mencatat kanker payudara dan kanker leher rahim (serviks) memiliki kasus tertinggi di seluruh rumah sakit. Berdasarkan Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS), jumlah pasien rawat jalan maupun rawat inap di Indonesia untuk kanker payudara yaitu 12.014 orang (28,7%) dan kanker serviks 5.349 orang (12,8%)(2).

Pengobatan utama penyakit kanker meliputi empat macam yaitu pembedahan, radioterapi, hormon terapi dan kemoterapi. Beberapa efek samping yang tidak diinginkan akan timbul selama kemoterapi. Efek samping kemoterapi timbul karena obat-obat kemoterapi sangat kuat, dan tidak hanya membunuh sel-sel kanker, tetapi juga menyerang sel-sel sehat, terutama sel-sel yang membelah dengan cepat. Efek samping dapat muncul ketika sedang dilakukan pengobatan atau beberapa waktu setelah pengobatan(3).

Beberapa hal yang diakibatkan oleh efek samping terapi tersebut adalah rambut rontok bahkan sampai botak dapat terjadi selama pemberian kemoterapi, gangguan pada sumsum tulang yaitu berkurangnya hemoglobin, trombosit, dan sel darah putih, membuat tubuh lemah, merasa lelah, sesak nafas, mudah mengalami perdarahan, dan mudah terinfeksi, kulit membiru/menghitam, kering, serta gatal, pada mulut dan tenggorokan terdapat sariawan, terasa kering, dan sulit menelan, adanya mual dan muntah, nyeri pada perut saluran pencernaan, produksi hormon terganggu sehingga menurunkan nafsu seks dan kesuburan. Berat ringannya efek samping kemoterapi tergantung pada banyak hal, antara lain jenis obat kemoterapi, kondisi tubuh baik berat badan, usia, kondisi psikis pasien(3).

Kualitas hidup adalah faktor penting yang harus dipertimbangkan dan sangat diperlukan. Manfaat dari pengukuran kualitas hidup oleh tenaga kesehatan antara lain memudahkan tenaga kesehatan untuk dapat berkomunikasi dengan pasien, membantu mencari informasi masalah yang dapat mempengaruhi pasien, memperbaiki proses penyembuhan pasien sebagai hasil utama pengukuran, membuat keputusan pada pengobatan, sebagai evaluasi ekonomi dalam penelitian klinik jangka panjang, dan efektivitas biaya dari teknologi kesehatan yang baru(4).

Penelitian yang dilakukan terhadap 50 pasien tentang kualitas hidup pasien terhadap kecemasan pasien kanker payudara, mengatakan terdapat 58,22% pasien mengalami kualitas hidup yang rendah, dan 24,63% pasien mengalami kualitas hidup sedang(5).

Penelitian sejenis juga dilakukan terhadap 33 orang pasien kanker payudara setelah kemoterapi mengalami kualitas hidup yang rendah sebanyak 57,6%(2). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek samping yang terjadi pada pasien kanker payudara dan mengetahui korelasi *Quality of Life* (QoL) dengan efek samping obat kemoterapi

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah rekam medik, *follow up* pasien kanker payudara periode September 2017 sampai dengan Maret 2018 dan kuisioner *Quality of Life Instrument - Breast Cancer Patient Version* yang di adopsi dari *City of Hope*(6).

METODE. Metode yang digunakan yaitu prospektif observasional dengan kriteria inklusi pasien kanker payudara yang sudah selesai kemoterapi periode September 2017 sampai dengan April 2018 dengan mengamati efek samping yang terjadi karena obat kemoterapi serta mengisi *inform consent* dan mengisi kuisioner *Quality of Life Instrument*. Data sosiodemografi pasien yang diambil meliputi usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan dan diagnosis yang ditetapkan oleh dokter.

Analisis Data. Analisa data efek samping obat kemoterapi dilakukan secara deskriptif untuk mengetahui efek samping apa saja terjadi selama kemoterapi dan analisa menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 21 untuk mengetahui korelasi antara efek samping kemoterapi obat dan *Quality of Life* (QoL)(7).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Pasien/ Sosiodemografi Pasien. Data diambil dari rekam medis pasien dan wawancara dengan pasien/ keluarga pasien yang mendampingi seperti tertera pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1 sosiodemografi pasien menggambarkan pasien menderita kanker payudara terbanyak pada usia 51-60 tahun sebanyak (27,5%), usia 61-70 tahun sebanyak (23,75%), dan usia 41-50 tahun sebanyak (22,5%) karena usia yang rentan terserang kanker payudara pada wanita adalah usia diatas 40 tahun yang tidak memiliki anak dan wanita yang mempunyai anak pertama di atas usia 35 tahun(8).

Pada Tabel 1 semua pasien kanker payudara berjenis kelamin perempuan karena di seluruh dunia risiko terserang kanker payudara sering ditemukan pada perempuan (99%) dan pada laki-laki (1%)(9). Kejadian kanker payudara dipengaruhi oleh berbagai faktor risiko salah satu yang penting adalah jenis kelamin,

Tabel 1. Tabel karakteristik/ sosiodemografi pasien.

Karakteristik	Jumlah	
	N	%
Usia		
31-40 thn	7	8,75
41-50 thn	18	22,5
51-60 thn	22	27,5
61-70 thn	19	23,75
71-80 thn	11	13,75
80-90 thn	3	3,75
Jenis Kelamin		
Perempuan	80	100
Tingkat Pendidikan		
SMP	14	17,5
SMU	40	50
S1	25	31,25
S2	1	1,25
Diagnosis		
Ca Mamae	48	60
Ca Mamae meta tulang	32	40

wanita berisiko 100 kali lebih tinggi dibandingkan laki-laki. Faktor lain yang meningkatkan risiko kanker payudara riwayat kehamilan, usia saat hamil anak pertama, penggunaan kontrasepsi hormonal, riwayat menarche pada usia kurang dari 12 tahun, dan riwayat adanya keluarga dengan kanker payudara(10).

Efek Samping Obat Kemoterapi. Efek samping obat adalah efek samping yang terjadi akibat pemakaian obat yang tidak diinginkan. Semua pasien

kanker payudara mengalami efek samping obat kemoterapi karena semua obat-obat yang digunakan untuk kemoterapi pada pasien kanker payudara pasti terjadi efek samping, evaluasi efek samping obat menggunakan rekam medik pasien dan wawancara langsung. Hasilnya 100% semua pasien kanker payudara mengalami efek samping obat kemoterapi.

Dalam suatu penelitian yang dilakukan oleh Carson et al. (2002) persentase pasien yang mengalami efek samping dari kemoterapi yang dijalannya kerontokan rambut sebanyak (89%), mual (87%), lelah (86%), muntah (54%), gangguan tidur (46%), peningkatan berat badan (45%), sariawan (44%), kesemutan (42%), gangguan pada mata (38%), diare (37%), konstipasi (19%), kemerahan pada kulit (18%) dan penurunan berat badan (13%)(11). Untuk mengatasi efek samping yang muncul setelah kemoterapi umumnya pasien diberi terapi premedikasi berupa obat golongan kortikosteroid dan anti emetik(11), pada kenyataannya dalam penelitian ini pasien mengalami efek samping dari kemoterapi adalah kelelahan (100%), mual (67,5%), muntah (60%), tidak ada nafsu makan (63,75%), demam (42,5%), sakit pada persendian/ otot (43,75%), diare (16,25%), sulit menelan (16,25%), alergi (5%), gatal (1,25%), ada luka dimulut (3,75%), bengkak tangan kanan (1,25%), sembelit (3,75%). Data efek samping obat yang terjadi pada semua obat di setiap siklus dapat diketahui di Tabel 2.

Dari Tabel 2 diketahui bahwa kejadian efek samping obat kemoterapi pada setiap siklus berbeda- beda hal ini disebabkan karena kemoterapi mempengaruhi setiap pasien berbeda – beda dan dengan cara yang berbeda. Beberapa pasien memiliki efek samping yang lebih banyak dari yang lain, beberapa orang ada

Tabel 2. Tabel efek samping obat kemoterapi.

Jenis efek samping obat kemoterapi	Siklus (%)					
	I	II	III	IV	V	VI
Lemas	100	100	100	65	28,75	22,50
Mual	67,50	70	63,75	55	26,25	22,50
Muntah	22,50	22,50	22,50	55	26,25	22,50
Tidak ada nafsu makan	63,75	63,50	60	57,50	27,50	22,50
Demam	42,50	33,75	20	12,50	1,25	1,25
Sakit pada otot/ persendian	43,75	41,25	35	13,75	1,25	
Diare	16,25	11,25	2,50	2,50	1,25	1,25
Sulit menelan	16,25	23,75	25	21,25	5	5
Alergi	5	3,75	1,25			
Gatal	1,25					
Ada luka di mulut	3,75	8,75	2,50	5	1,25	
Bengkak tangan kanan	1,25			1,25		
Sembelit	3,75	1,25				

yang memiliki pengaruh yang sangat sedikit terhadap kemoterapi.

Pada siklus pertama kemoterapi yang terjadi lebih banyak dibandingkan pada siklus berikutnya karena sudah ada perbaikan dari siklus pertama jadi pada siklus keenam jenis efek samping yang terjadi lebih sedikit dibanding siklus pertama sampai kelima. Hal ini terjadi karena tujuan terapi pengobatan kanker payudara awal dan lokal tingkat lanjut adalah kesembuhan, tujuan terapi kanker payudara metastasik untuk memperbaiki gejala, memperbaiki kualitas hidup.

Quality of Life (QoL) Pasien Kanker Payudara.

Kualitas hidup pasien kanker payudara dinilai dengan menggunakan kuisioner *Quality of Life Instrument - Breast Cancer Patient Version* yang di adopsi dari *City of Hope*. Instrument ini digunakan pada penderita kanker payudara karena dapat mengukur kualitas hidup dari berbagai domain dan alat ini sudah banyak digunakan oleh orang di luar negeri untuk mengukur kualitas hidup pasien kanker. *Quality of life (QoL)* yaitu kualitas hidup pasien setelah mendapatkan pengobatan yang dapat diukur berdasarkan 4 domain yaitu: fisik, psikologi, sosial, dan spiritual pasien. *Quality of Life Instrument - Breast Cancer Patient Version* yang di adopsi dari *City of Hope* memiliki seluruh varian kualitas hidup pasien kanker payudara. Penelitian sejenis dilakukan untuk mengetahui gambaran kualitas hidup pasien kanker payudara didapatkan hasil fisik (4,13%), psikologis (4%),

sosial (6%), spiritual (5,68%)(12). Pada penelitian ini didapatkan hasil fisik (6,16%), psikologis (5,25%), sosial (4,87%), spiritual (6,77%).

Pada penelitian ini sebagian besar pasien kanker payudara telah dilakukan pembedahan dan sedang menjalani kemoterapi. Tindakan medis kemoterapi memiliki efek fisik maupun psikis. Efek fisik yang dirasakan oleh pasien yang menjalani kemoterapi seperti depresi tulang belakang, reaksi gastrointestinal, gangguan fungsi hati, ginjal, kardiotoxikitas, pulmotoksisitas, neurotoksisitas, dan reaksi alergi(13).

Efek psikis yang dirasakan lamanya menjalani terapi, stadium, dan penatalaksanaan medis yang sedang dijalani. Hasil penelitian domain sosial sangat rendah dibandingkan dengan penelitian lain dimana kualitas domain sosial rata-rata 6 hal ini dikarenakan pasien kanker payudara menutup diri dari lingkungan dan keluarga. Hasil domain spiritual penelitian lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian lain dengan rata-rata 4, spiritual seseorang dapat dikaitkan pada religiusitas, dimana religiusitas merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kualitas hidup. Religiusitas merupakan ekspresi spiritual seseorang yang berkaitan dengan sistem keyakinan, nilai, simbol dan ritual. Sehingga kondisi yang sedang dialami pada pasien kanker payudara menimbulkan dorongan agar lebih dekat kepada Tuhan dengan cara meningkatkan status ibadah dan doa sebagai rasa harap akan kesembuhan dirinya(14).

Korelasi Efek Samping Obat Kemoterapi dan Quality of Life (QoL). Penelitian ini bertujuan melihat apakah ada korelasi antara efek samping obat kemoterapi dengan QoL. Menggunakan SPSS versi 21 dengan uji *Spearman's* didapatkan hasil seperti Tabel 3.

Hasil uji statistik menggunakan uji Spearman's untuk melihat korelasi antara efek samping obat kemoterapi dengan QoL pasien kanker payudara, terlihat jelas tidak ada hubungan antara efek samping obat dengan QoL pasien kanker payudara. Menggunakan uji Spearman's karena data tidak terdistribusi normal, tidak ada hubungan korelasi antara efek samping

Tabel 3. Tabel domain quality of life (QoL) pasien kanker payudara.

Domain	Rata-rata	Standar deviasi
n = 80		
Fisik	6,16	0,47
Psikologis	5,25	1,85
Sosial	4,87	0,36
Spiritual	6,77	0,22

Tabel 4. Korelasi efek samping obat kemoterapi dan quality of life (qol).

		Efek Samping	Score QoL	
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1.000	-.031	
	Efek Samping	Sig. (2-tailed)	.	
	N	80	80	
	Score QoL	Correlation Coefficient	-.031	1.000
	Sig. (2-tailed)	.786	.	
	N	80	80	

obat kemoterapi dengan QoL pasien kanker payudara karena hasil skor efek samping terhadap QoL yaitu -0,31 yang menandakan berlawanan arah atau tidak ada korelasi, dengan nilai $p > 0,05$ dimana tidak ada korelasi yang bermakna dengan dua variabel yang diuji. Tetapi dari hasil *follow up* pasien jelas ada

hubungan antara efek samping obat kemoterapi dengan kualitas hidup pasien.

Pada penelitian ini peneliti mengelompokkan kualitas hidup dengan skala kategori buruk (1-3), sedang (4-7), baik (8-10). Kualitas hidup pasien kanker payudara pada penelitian ini termasuk kategori sedang. Hal ini sejalan dengan hasil efek samping obat kemoterapi dari siklus pertama dan terakhir, jelas menunjukkan penurunan efek samping yang dirasakan pasien. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Samsu Alam (2017) gambaran kualitas hidup keseluruhan rata-rata 4,95. Sedangkan kualitas hidup keseluruhan rata-rata penelitian ini 5,76. Pemberian terapi tidak hanya diberikan sekali saja, namun diberikan secara berulang. Semakin lama pasien menjalani terapi maka adaptasi pasien semakin baik, karena pasien telah mendapatkan pendidikan kesehatan atau informasi yang diperlukan dari petugas kesehatan (15).

Pada umumnya seseorang yang menderita kanker payudara ketika sudah stadium lanjut perlu melakukan pengobatan meliputi pembedahan, kemoterapi, terapi hormon, terapi radiasi, dan terapi imunologi. Dalam penelitian ini sebagian responden telah melakukan pembedahan dan melakukan kemoterapi. Sehingga kualitas hidup pasien kanker payudara dapat dipengaruhi dengan terapi yang sedang dijalani. Tindakan medis kemoterapi memiliki efek fisik maupun psikis yang mempengaruhi QoL pasien kanker payudara (13).

SIMPULAN

Berdasarkan seluruh evaluasi yang telah dilakukan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jenis efek samping yang terjadi oleh pasien adalah kelelahan (100%), mual (67,5%), muntah (60%), tidak ada nafsu makan (63,75%), demam (42,5%), sakit pada persendian/ otot (43,75%), diare (16,25%), sulit menelan (16,25%), alergi (5%), gatal (1,25%), ada luka dimulut (3,75%), bengkak tangan kanan (1,25%), sembelit (3,75%). Hasil kuisioner yang diberikan kepada pasien didapatkan rata-rata perdomain yaitu fisik 6,16; psikologis 5,25; sosial 4,87; dan spiritual 6,77. Hasil uji Sperman menunjukkan tidak ada korelasi antara efek samping kemoterapi dan QoL $P > 0,05$.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bray F. Mc Carron, Parkin DM. Review. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast Cancer Research*; 2004, h 229-39.
2. Tjindarbumi. Penanganan kanker payudara masa kini dengan berbagai macam isu di Indonesia. *Proceeding Indonesian Issues on Breast Cancer*. Surabaya. 2004
3. Bakhtiar. Manfaat & efek samping kemoterapi. Dapat diakses di [http://Manfaat dan efek samping kemoterapi-Bakhtiar.htm](http://Manfaat%20dan%20efek%20samping%20kemoterapi-%20Bakhtiar.htm) dibuka pada tanggal 28 Maret 2018. 2012
4. Saragi. Hubungan dukungan keluarga dengan kualitas hidup klien hemodialisa di rumah sakit H Adam Malik Medan. 2010. <http://respository.usu.ac.id/diaksesn>.
5. Grunberg, Steven, M. Management of nausea and vomiting. 2007 <http://i.cmpnet.com/cancernetwork/handbook/pdf/38nausea.pdf>.
6. Betty, R, Ferrel. Quality of life instrument - Breast Cancer Patient Version City of Hope. United State. 1995.
7. Ghozali, Imam. Aplikasi analisis multivariate dengan program IBM SPSS 21 (Update LS Regresi). Edisi Ketujuh. Badan Penerbit UNDIP: Semarang. 2013.
8. Kusminto. Deteksi sangat dini kanker payudara, jawaban untuk menghindar. Departemen Kesehatan. 2006.
9. Australian Cancer Incidence And Mortality (ACIM) Breast Cancer. <http://www.aihw.gov.au/acim-books/>
10. Pherson K Mc, Steel CM, Breast cancer epidemiology risk factor and genetic, *BMJ*. 2010; Vol 321 : 624-8.
11. Carson, C. Exercise for cancer patients, *HCA Cancer Care*, Colorado 2002.
12. Alam, S. Gambaran kualitas hidup pasien kanker payudara di RSUD Panembahan Senopati Bantul. Skripsi. 2017. Yogyakarta.
13. Dersen W. Onkologi klinis. Jakarta: Fakultas kedokteran universitas Indonesia. 2011.
14. Ismail S. Metodologi penelitian kesehatan. 2009. Jakarta: PT. Rineka cipta.
15. Setyawati, S., Rosalina., Pranowati, P. Hubungan lama kemoterapi dengan kualitas hidup pasien kanker payudara di RSUD Tugurejo Semarang. 2014 PSIK ngudiwaluyo ungaran.

The Study of Blood Creatinin and Urea Concentration of Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) due to Sodium Nitrite Induction

(Konsentrasi Kreatinin dan Urea dalam Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Akibat Pemberian Natrium Nitrit)

DYAH AYU WIDYASTUTI^{1*}, MARIA ASIH RISTIANTI², IKA MAYA SARI²

¹Pendidikan Biologi, Universitas PGRI Semarang,

²Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Diterima 16 Agustus 2018, Disetujui 22 Februari 2019

Abstract: Sodium nitrite is one of common food addition in most meat product. This kind of food preservative is allowed by Permenkes No.722/Menkes/Per/IX/88 only in minimum doses due to its carcinogenic effect. The most targeted organ is kidney which is sensitive to chemical matter as nephrotoxin. When the kidney is damaged, the erythropoietin secretion to form erythrocyte is disturbed. Physiological damage in kidney can be identified by the concentration of blood creatinin and urea. The objective of this research is to study about blood creatinin and urea concentration of Wistar rats which is induced by sodium nitrite. Two groups of Wistar rats were induced by two doses of sodium nitrite (11.25 and 22.50 mg/kg body weight, respectively) a day with one group of control. Blood serum of those three groups were then be analyzed for creatinin and urea concentration each week for three months. The result showed that creatinin concentration is fluctuative during the day one to day ninety. The average of creatinin concentration for two treated groups is not significantly lower than control group. Generally, the urea concentration is increasing for day fourteen to seventy seven then decreasing in day eighty four to ninety. However, there are no significant differences among three groups.

Keywords: Creatinin, sodium nitrite, urea.

Abstrak: Natrium nitrit adalah bahan pengawet yang sering digunakan untuk olahan daging. Penggunaannya diatur oleh pemerintah melalui Permenkes No.722/Menkes/Per/IX/88 dengan dosis minimal karena adanya efek karsinogenik. Natrium nitrit seringkali menyerang ginjal sebagai organ target karena organ ini sensitif terhadap senyawa kimia yang bersifat nefrotoksin. Ketika ginjal mengalami kerusakan, sekresi eritropoietin untuk pembentukan eritrosit pun terganggu. Kerusakan fisiologis pada ginjal dapat diidentifikasi melalui konsentrasi kreatinin dan urea pada darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari konsentrasi kreatinin dan urea pada darah tikus putih galur Wistar yang diberi perlakuan natrium nitrit. Dua kelompok tikus putih galur Wistar diberi perlakuan masing-masing 11,25 dan 22,50 mg/kgBB/hari natrium nitrit, dengan satu kelompok kontrol. Serum darah dari ketiga kelompok tersebut dianalisis konsentrasi kreatinin dan urea nya setiap minggu selama tiga bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi kreatinin cenderung fluktuatif antara hari pertama hingga ke-sembilan puluh. Rata-rata konsentrasi kreatinin pada dua kelompok perlakuan tidak signifikan lebih rendah dari kelompok kontrol. Secara umum, konsentrasi urea meningkat pada hari ke-empat belas hingga tujuh puluh tujuh, kemudian menurun di hari ke-delapan puluh empat hingga sembilan puluh. Tetapi, konsentrasi kreatinin dan urea pada ketiga kelompok tidak menunjukkan beda nyata.

Kata kunci: Kreatinin, natrium nitrit, urea.

*Penulis korespondensi: Hp. 081325381367
email: wid.dyah@gmail.com

INTRODUCTION

FOOD preservatives can be natural or synthetic which are added to increase shelf life and maintain quality of food by inhibit, retard, or arrest its fermentation, acidification, decomposition, and contamination(1). Meat product is one of the most kind of food which nessary to be preserved. The common preservative for meat product is sodium nitrite (NaNO_2)(2) which inhibit growth of patogen *Clostridium botulinum*, defend the meat color(2,3), and provide specific meat flavor(4). Sodium nitrite is kind of sintetic food preservatives which is used in the form of free acid or salt(5). Sodium nitrite (NaNO_2) which is eaten will unravel to nitroxide (NO) and oxcide (O). Nitroxide (NO) bind erythrocyte to form nitrosohemoglobin which cause decreasing of oxigen fixation ability(6).

Indonesian Ministry of Health decide the limit of sodium nitrite usage for food preservation is 125 mg/kg(7). Nitroso compounds in sodium nitrite has potential to yield nitrosamines which is carcinogenic(8).

Sodium nitrite intake during preserved meat consumption influence several organ function, include kidney, liver, esophagus, stomach, pancreas, bladder, etc. The kidney has important role to release the toxins(9). Nitrite ions from sodium nitrite are soluble in water(2) and may cause some effect for kidney during its tubular reabsorption. There are some marked damage in kidney cells due to sodium nitrite doses of 60 and 75 mg/kg body weight consumption in rat. Intake of Sodium nitrite increase the activity of AST and ALT enzymes which trigger the formation of cytotoxic N-nitrosocompound. These compounds cause severe renal and hepatic necrosis(and cause kidney disfunction(11). The damage of kidney cells also can be shown by analyzed the creatinin and urea concentration in serum(12,13,14). This research want to study about creatinin and urea concentration of Wistar rats kidney which is induced by sodium nitrite

MATERIAL AND METHOD

MATERIAL. Wistar rats (*Rattus norvegicus*) 2.5 m.o., sodium nitrit (NaNO_2), aquadest, standard woof, eter alcohol, ketamine, creatinin kit (Diasys; Catalog No:1 1711 99 10 021), NaCl 0.9%, wash reagent, sodium hydroxide, picric acid; urea kit (Diasys; Catalog No: 1 3101 99 10 021), Tris, 2-oxoglutarate, ADP, glutamate dehydrogenase, NADH, urea standard 50 mg/dL), cages, hematocrit, microtubes 1.5 mL, spectrophotometer, micropipet, centrifuge, vortex-mixer, and pipet tip.

METHODS. Dose Determination. The dose which use in T1 was refer to sodium nitrite safe dose, that is

125 mg/kg meat. While, dose for T2 was twice. Dose for T1 is 11.25 mg/kg body weight and T2 is 22.50 mg/kg body weight.

Animal Reserch Grouping. Twenty seven female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) wa use in this research. These rats was 2,5 m.o. with body weight is 110-120 gram in average. Each group which are control (C), treatment 1 (T1), and treatment 2 (T2) consists of nine Wistar rats. Control group had no treatment, treatment 1 was treated with 11.25 mg/kg body weight sodium nitrite, and treatment 2 was treated with 22.50 mg/kg body weight. Each groups was treated for ninety days.

Sodium Nitrite Per Oral Treatment. Stock solution was made by adding 0.1125 g to 100 mL aquadest for T1 and 0.2250 mL in 100 mL aquadest for T2. Those stock solution were administrating per oral to Wistar rats during ninety days. Stock solution administration was adapted with Wistar rats body weight.

Serum Collection. Blood was collected each week for each rat by sinus orbitalis at LPPT UGM (Preclinic unit). Collected blood was store at microtube 1.5 mL without anticoagulant then be sentrifuged at 5000 rpm for 5 minutes. Serum was transfered to other microtubes before analyzed.

Measurement of Creatinin Concentration. Fifty microliter of collected serum was added to 1000 μL monoreagent from Diasys creatinin measuring kit and incubated for 60 seconds. The absorbance of serum samples were read at λ 492 nm twice with interval 1 minute. The first absorbance of serum samples was averaged with the second absorbance and multiplied with multiplier which printed on Diasys creatinin measuring kit.

Measurement of Urea Concentration. The monoreagent (4 part from reagent I and 1 part from reagent II) were incubated at 15-25°C for 30 minutes then storage in dark bottle before use. Ten microliter of collected serum and 10 μL urea standard were added to 1000 μL monoreagent, each, and incubated for 60 seconds at 20-25°C. The absorbance of serum samples were read at λ 340 nm twice with interval 1 minute. The first absorbance of serum samples was averaged with the second absorbance and measure the urea concentration with formula:

$$\text{Urea concentration } \frac{\text{mg}}{\text{dL}} = \frac{\Delta \text{ sample absorbance}}{\Delta \text{ standard absorbance}} \times \text{standard concentration/cal}$$

Data Analysis. The data of creatinin and urea concentration were analyzed with one way ANOVA (Analysis of Variance) to know either significancy

among three groups or not. One way ANOVA was run with SPSS 16 for Windows.

RESULT AND DISCUSSION

Creatinin Concentration (mg/dL). This study perform 90 days per oral administration of sodium nitrite (NaNO_2) with two different doses. There are three groups of nine Wistar rats, each. Creatinin and urea concentration are one of parameters to identify the condition of kidney(13). Kidney damage can be marked by the increase of both concentration in the blood(15,14). Creatinin and urea in blood are the end products of nitrogenous protein metabolism and commonly filtered at glomerulus due to its small molecular size(15). Changes in Glomerular Filtration Rate (GFR) is responsible for the changes of serum creatinin and urea concentration(13)

Increase of creatinin concentration in blood indicate the early kidney damage. Creatinin concentration of Wistar rats which induced by sodium nitrite in this study show a very fluctuative results (Figure 1.). Each day of the test, creatinin concentration is always go up and down, in C, T_1 , and T_2 . At day 0, C and T_1 group showed same creatinin concentration average 0.4 mg/dL. While T_2 showed 0.57 mg/dL creatinin concentration average. Generally, the creatinin

during day 0 to 90. In rats, creatinin will increase due to its muscle mass condition. The higher muscle mass, the higher creatinin level(16). But, in old rats, creatinin level will decrease due to its lower muscle mass than younger one. Level of creatinin concentration is depend on tubular secretion of serum creatinin. Factors which affect creatinin concentration in blood are age, sex, furrow, body habits, and diet(14).

All the Wistar rats in this study were feeded with standard woof. So, that is not one of the factor which affect level of creatinin concentration in this study.

Sodium nitrite stimulate thyroid and adrenal glands to blockade synthesis of protein, faster breakdown, increase free amino acids rate, and decrease protein turnover(12). So, creatinin forming is faster and stimulate the great storage in blood level. Sudden decrease of GFR are stimulated by trauma, haemorrhagiae, anesthesia, and bacteri infectio(17). Anesthesia before blood collection were reported increase creatinin concentration and trigger kidney damage(18).

Generally, creatinin concentration on day 90 is nearly same as its concentration on day 0. Kidney secrete toxic and waste component. Sodium nitrite is a polar matter so it may already release from body system. At early sodium nitrite treatment, Na ion is increase so renin is secreted to normalize Na

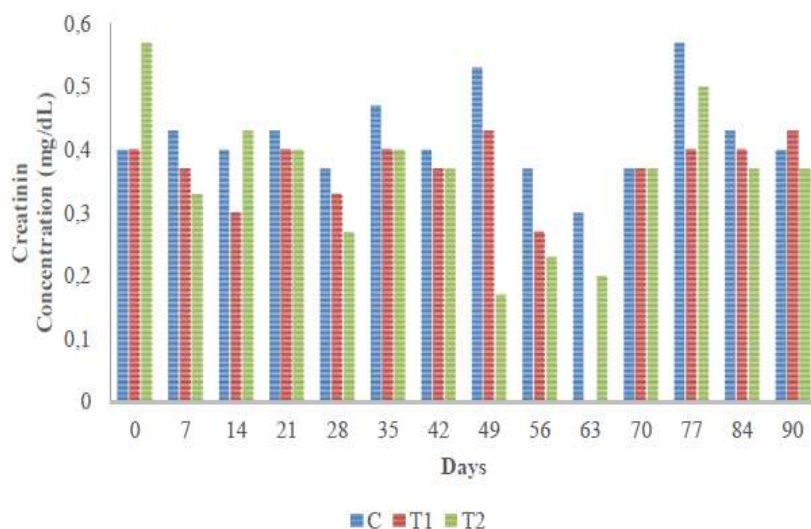


Figure 1. The average of creatinin concentration in Wistar rats induce with sodium nitrite during ninety days.

concentration was fluctuative during ninety days of test, with trend T_1 and T_2 is below C level.

At day fourteen, T_2 is higher than both C dan T_1 . T_1 is the lowest one, and T_2 is the highest. But, those T_1 and T_2 result is lower than day 0. The result generally showed that creatinin concentration is fluctuative

ion concentration. The older Wistar rats, creatinin concentration is also higher due to its activity. High activity with muscle mass rising will affect the creatinin concentration in blood due to its production from creatine and phosphocreatine which take place in skeletal muscle(19). So, if the Wistar rats has a high

activity with high muscle mass, it may also has a high creatinin concentration(14,16,20)

Based on ANOVA test, those three groups did not represent significant differences of creatinin concentration (Table 1.). Sodium nitrite treatment in T₁ and T₂ do not significantly affect the creatinin concentration compared with C. Those fact imply that sodium nitrite treatment everyday during ninety days in both T₁ and T₂ doses give no significant subchronic effect to kidney function. In C group, there ia a significant creatinin concentration beetwen day 63 and day 77. However, other than that, there are no significant differences in creatinin concentration among three groups. Creatinin concentration decrease at day 56 and 63, but it start to increase at day 70 (Figure 1.).

Those tren show that all the creatinin concentration may be influenced by body condition of Wistar rats, but not significantly been influenced by sodium nitrite treatment.

Creatinin concentration in this study indicate that 11.25 and 22.50 mg/kg bodyweight a day sodium nitrite is not high enough to increase creatinin

However, the effect of this sodium nitrite may different if this chemical matter combine with another in one meat product. So, an appropriate use of sodium nitrite as food preservative is nessessary to be controlled.

Urea Concentration (mg/dL). Beside creatinin, changes in kidney function is also can be detected by blood urea concentration. Urea is an excretion product from protein metabolism⁽¹⁴⁾ and its amount is affected by protein consumption. Formation of urea in body system is influenced by several factors, such as function of kidney, function of liver, protein intake, protein catabolism⁽¹³⁾, and hydration status⁽²¹⁾. Actually, urea nitrogen ia normally found in blood as waste nitrogen product that comes from food protein breakdown⁽¹⁴⁾. But, the urea concentration in blood is increasing while there is a kidney failure occurs. Urea concentration has to combine with creatinin concentration in blood to indicate the right kidney condition⁽²¹⁾.

Same as creatinin concentration, blood urea nitrogen (BUN) is also varied among various age and between sex⁽¹⁵⁾. BUN increase in line with Wistar rats age (Figure 2.). In common, accumulation of

Table 1. The differences of creatinin concentration among three groups based on ANOVA test.

Days	Creatinin concentration (mg/dL)		
	C	T ₁	T ₂
0	0.4 ± 0.00 ^{ab}	0.4 ± 0.10 ^a	0.57 ± 0.15 ^d
7	0.43 ± 0.05 ^{ab}	0.37 ± 0.05 ^a	0.33 ± 0.11 ^{abcd}
14	0.40 ± 0.1 ^{ab}	0.30 ± 0.17 ^a	0.43 ± 0.05 ^{bcd}
21	0.43 ± 0.11 ^{ab}	0.40 ± 0.1 ^a	0.40 ± 0.1 ^{abcd}
28	0.37 ± 0.05 ^{ab}	0.33 ± 0.05 ^a	0.27 ± 0.05 ^{abc}
35	0.47 ± 0.05 ^{ab}	0.40 ± 0.10 ^a	0.40 ± 0.10 ^{abcd}
42	0.40 ± 0.00 ^{ab}	0.37 ± 0.05 ^a	0.37 ± 0.05 ^{abcd}
49	0.53 ± 0.23 ^{ab}	0.43 ± 0.43 ^a	0.17 ± 0.16 ^{ab}
56	0.37 ± 0.15 ^{ab}	0.27 ± 0.05 ^a	0.23 ± 0.11 ^{abc}
63	0.30 ± 0.10 ^a	0.27 ± 0.05 ^a	0.20 ± 0.14 ^a
70	0.37 ± 0.05 ^{ab}	0.37 ± 0.05 ^a	0.37 ± 0.15 ^{abcd}
77	0.57 ± 0.05 ^b	0.40 ± 0.10 ^a	0.50 ± 0.00 ^{cd}
84	0.43 ± 0.05 ^{ab}	0.40 ± 0.10 ^a	0.37 ± 0.05 ^{abcd}
90	0.40 ± 0.00 ^{ab}	0.43 ± 0.05 ^a	0.37 ± 0.11 ^{abcd}

Note: Number with different letter show significance creatinin concentration.

concentration in blood. These fact conclude that if sodium nitrite is consumed in low doses, bellow 22.50 mg/kg body weight a day, there may not be a problem to kidney function at least in short term treatment.

urea in blood arises from degradation of protein in food and tissue, such as muscle⁽¹⁴⁾. Kidney system to excrete urea from body makes urea concentration as useful indicator to evaluate kidney function⁽²¹⁾.

Kidney malfunction is also been indicated as a obesity effect(22). Older Wistar rats with higher body mass has higher urea concentration (Figure 2.) and increase the risk of kidney damage.

Based on the result of ANOVA test, all the enhancement of urea concentration level did not have significant differences among groups. Per oral administration in T_1 and T_2 did not affect the urea

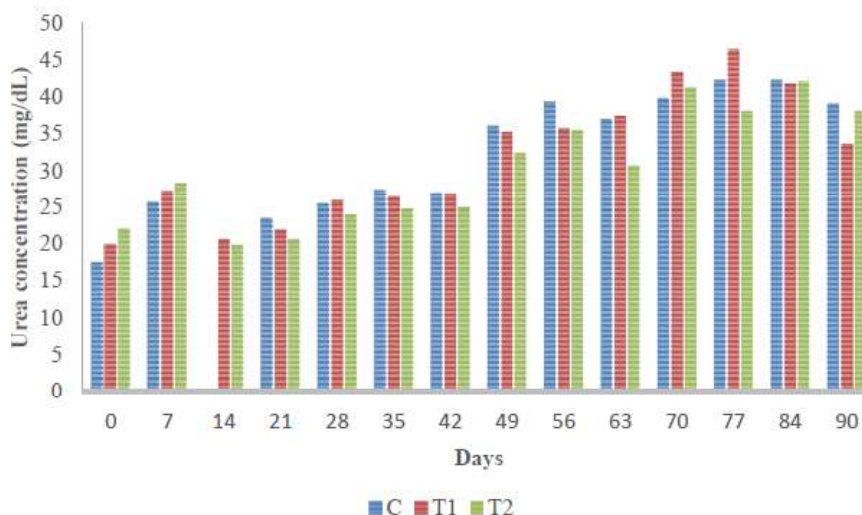


Figure 2. The average of blood urea concentration in Wistar rats induce with sodium nitrite during ninety days.

Blood urea increasing is started at day 21. Same as creatinin concentration, the urea concentration in C is also mostly higher than other two groups with treatment. Urea concentration in T_2 is mostly the lowest one. Those result may indicate that sodium nitrite treatment with two different doses is not high enough to affect blood urea concentration. The highest urea concentration is at day 77 and 84 for C, day 77 for T_1 and day 84 for T_2 . All three groups show urea concentration increasing start at day 70 to 77, then decrease at day 84 and 90. Enhancement of urea concentration is depend of Wistar rats age level and its level of protein catabolism. Wistar rats may face metabolism problem so its protein breakdown is also disturbed then affect to urea concentration in blood.

Enhancement of urea concentration may be affected by excess of protein consumption(23). The excess protein is absorbed by small intestine and be changed to ammonia by colon microbes. Ammonia diffuse through blood stream to liver then enter the urea cycle. Sodium nitrite intake each day increase the nitrogen level. The excess nitrogen enter urea cycle to be changed to urea. Urea is excreted through kidney as urine. As the glomerular filtration rate (GFR) reduction, urea is pile up in the blood. So, the urea concentration is increase each seven days until day 77. Glomerular filtration rate can be decrease due to trauma, haemorrhagi, anesthesia, and bacteri infection. If those occur, so the kidney will loose its function as filtration organ.

concentration level, significantly. Those two groups show that in doses 11.25 and 22.50 mg/kg body weight a day of sodium nitrite did not high enough to increase the risk of kidney failure. However, the effect will be different if sodium nitrite reacts with other food additives to form one marketable food. Different reaction of sodium nitrite with different food additives will show different effect in body function. So, this study show that no effect of the treatment is only happen when sodium nitrite is a single use at doses 11.25 and 22.50 mg/kg body weight a day.

Effect of sodium nitrite is different due to its mixture, either other chemical matter added or other concentration. Based on ANOVA test, blood urea concentration measured at day 0 is significantly different with day 49 and so on. Low filtration rate cause long storage of filtrat in kidney tubular before it release as urine. The longer filtrat storage time, the bigger urea reabsorption in blood. So, urine urea concentration is reduce, on the other hand, blood urea concentration is increase.

Blood urea concentration in T_2 is significantly different at day 14, 21, and 63 with day 70 and 84. But, all those concentration is not different from concentration at day 0. Those fact may be caused by sudden reduction of glomerular filtration rate. Beside all internal factors due to sodium nitrite induction, high creatinin and urea concentration in blood is also been affected by anestesi(18) and trigger kidney mulfunction.

During this study, Wistar rats body weight is also measured. The data show that body weight is increase day after day in all three groups. Those indicate the growth of Wistar rats been going well. However, interval of body weight increase in T₁ and T₂ is not as much as C due to its sodium nitrite treatment. Sodium nitrite in Wistar rats ruin its body metabolism and disturb nutrient absorption, so its body weight is also smaller than C, even though those three groups consume relatively same woof ammount.

ACKNOWLEDGEMENT

We want to thank all the LPPT UGM (preclinic unit) staffs, especially Mr. Bayu for take care of our Wistar rats. Our gratitute also sent to Mrs. Nastiti Wijayanti for all the knowledge and suggestion for this research. Last but not least, we thank to FALITMA, Biology Faculty UGM staffs for your priceless help, to LPPT Unit 2 staffs for your help to measure creatinin and

Table 2. The differences of urea concentration among three groups based on ANOVA test.

Days	Blood urea concentration (mg/dL)		
	C	T ₁	T ₂
0	17.43 ± 4.06 ^a	19.97 ± 3.43 ^a	22.07 ± 6.26 ^{ab}
7	25.53 ± 4.12 ^{abc}	27.27 ± 4.90 ^{abc}	28.30 ± 3.84 ^{ab}
14	23.13 ± 1.90 ^{ab}	20.60 ± 1.15 ^a	19.87 ± 2.85 ^a
21	23.37 ± 2.56 ^{ab}	21.90 ± 4.68 ^{ab}	20.60 ± 4.16 ^a
28	25.33 ± 2.00 ^{abc}	25.93 ± 2.40 ^{abc}	23.90 ± 1.80 ^{ab}
35	27.33 ± 4.44 ^{abc}	26.43 ± 2.61 ^{abc}	24.77 ± 3.38 ^{ab}
42	26.87 ± 2.72 ^{abc}	26.83 ± 1.07 ^{abc}	24.97 ± 3.32 ^{ab}
49	35.97 ± 12.35 ^{bcd}	35.27 ± 10.75 ^{cd}	32.40 ± 10.30 ^{ab}
56	39.20 ± 8.27 ^{cd}	35.73 ± 8.58 ^{cd}	35.53 ± 4.79 ^{ab}
63	36.90 ± 5.61 ^{bcd}	37.37 ± 2.73 ^{cd}	30.75 ± 3.46 ^a
70	39.67 ± 4.14 ^{cd}	43.27 ± 5.10 ^d	41.23 ± 6.71 ^b
77	42.23 ± 4.85 ^d	46.30 ± 5.58 ^d	38.07 ± 11.93 ^{ab}
84	42.20 ± 7.30 ^d	41.77 ± 2.23 ^d	41.97 ± 4.85 ^b
90	38.93 ± 5.65 ^{cd}	33.63 ± 5.27 ^{bcd}	38.07 ± 4.16 ^{ab}

Note: Number with different letter show significance blood urea concentration.

CONCLUSION

Generally, in this study, sodium nitrite treatment is not influence the level of blood creatinin and urea concentration yet, in both T₁ and T₂. Those result may be affected by small amount of sodium nitrite, so the dose is not high enough to disturb glomerular filtration rate. Even more, sodium nitrite in this study is only apply without other chemical added. Blood creatinin and urea concentration in three groups is not significantly different during 90 days of treatment. Blood creatinin and urea concentration in T₁ and T₂ is also not significantly different from C.

blood urea concentration of rats serum, and to all people which can not be mention one by one in this part. Thank you for all the kindness and warm hug.

REFERENCES

1. Anand SP and N Sati. Artificial preservatives and their harmful effects: looking toward nature for safer alternatives. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2013. 4(7): 2496-2501.
2. Peng T, Z Hu, X Yang, Y Gao and C Ma. Nitrite-induced acute kidney injury with secondary hyperparathyroidism: Case report and literature review. *Medicine*. 2018. 97(8): 01-04.
3. Fouad SS, MM Mohi-Eldin, MA Haridy and A. M.

- Khalil. Ameliorative effects of ascorbic acid (vit. C) against sodium nitrite toxicity in albino rats: hematological, biochemical and histopathological studies. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences*. 2017. 9(1): 01-06.
4. Helal E, S Zahkok, GZA Soliman, MAI-Kassas and HA Wahed. Biochemical studies on the effect of sodium nitrite and/or glutathione treatment on male rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2008. Vol. 30: 25-38.
 5. Helal EGE. Progressive effects of the interaction of sodium nitrite and sunset yellow on different physiological parameters in albino rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2001. Vol. 2: 23-46.
 6. Widyastuti DA. Blood profiles of Wistar rats due to subchronic condition caused by sodium nitrite. *Jurnal Sain Veteriner*. 2013. 31(2): 201-215.
 7. Lestari P, Sabikis PI, Utami. Analisis natrium nitrit secara spektrofotometri visibel dalam daging burger yang beredar di swalayan Purwokerto. *Pharmacy*. 2011. 8(3): 88-98.
 8. Sindelar JJ and AL Milkowski. Sodium nitrite in processed meat and poultry meats: a review of curing and examining the risk/benefit of its use. *American Meat Science Association: White Paper Series*. 2011. No. 3: 1-14.
 9. Ansari FA, SN Ali, AA Khan and R. Mahmood. Acute oral dose of sodium nitrite causes redox imbalance and DNA damage in rat kidney. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2017. DOI 10.1002/jcb.26611.
 10. Elsabagh, R. A., R. A. Amin, and A. Amin. Health risks of some meat additives on male rats. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 2014. 9(2): 285-298.
 11. Ateya RH, NM Taha, AEA. Mandour, MA. Lebda and AM El-Morshedy. Effect of monosodium glutamate and sodium nitrite on some biochemical parameters in Japanese quails. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. 2016. 48(1): 107-114.
 12. Aboulgasem GJA, AE Azab and MM. Almaky. Sodium nitrite induced biochemical alterations in the blood serum and its amelioration by aqueous extract of Libyan propolis in Guinea pigs. *International Journal of Science and Research*. 2013. 4(8): 1040-1048.
 13. Singh P, S Khan and RK Mittal. Renal function test on the basis of serum creatinine and urea in type-2 diabetics and nondiabetics. *Bali Medical Journal*. 2014. 3(1): 11-14.
 14. Nisha R, SRS. Kannan, KT Mariappan and P Jagatha. Biochemical evaluation of creatinine and urea in patients with renal failure undergoing hemodialysis. *Journal of Clinical Pathology and Laboratory Medicine*. 1(2): 01-05.
 15. Matsue Y, P van der Meer, K Damman, M Metra, CMO'Connor, P Ponikowski, JR Teerlink, G Cotter, B Davison, JG Cleland, MM Givertz, DM Bloomfield, HC Dittrich, RT Gansevoort, SJL Bakker, P van der Harst, HL Hillege, DJ van Veldhuisen and AA Voors. Blood urea nitrogen-to-creatinine ratio in the general population and in patients with acute heart failure. *Heart Failure and Cardiomyopathies*. 2017. <http://dx.doi.org/10.1136/heartjnl-2016-310112>.
 16. National Kidney Foundation. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification and stratification. 2002. Retrieved from <http://www.abclab.co.id/?p=944>.
 17. Hosten AO. *Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations* 3rd edition. 1990. Retrieved from <http://ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305/>
 18. Sahin SH, SO Sinar, I Paksoy, N Sut and S Oba. Comparison between low flow sevoflurane anesthesia and total intravenous anesthesia during intermediate-duration surgery effect on renal and hepatic toxicity. 2008. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3093149/?tool=pmcentrez>.
 19. Thomas D, S Zachariah, AEE Elamin and ALO Hashim. Limitations of serum creatinine as a marker of renal function. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*. 2017. 6(5): 168-170.
 20. Patel SS, MZ Molnar, JA Tayek, JH Ix, N Noori, D Benner, S Heymsfield, JD Kopple, CP Kovesdy, K Kalantar-Zadeh. Serum creatinine as a marker of muscle mass in chronic kidney disease: results of a cross-sectional study and review of literature. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2012. DOI 10.1007/s13539-012-0079-1.
 21. Salazar JH. Overview of urea and creatinine. *Lab Medicine*. 2014. 45(1): 19-20.
 22. Xie, YB, Bowe, T Li, H Xian, Y Yan and Z Al-Aly. Higher blood urea nitrogen is associated with increased risk of incident diabetes mellitus. *Clinical Investigation*. 2018. Vol 93: 741-752.
 23. Pagana, K. D. And T. J. Pagana. *Mosby's manual of diagnostic and laboratory test*. Mosby. Louis. 2006. pp: 467-470.

Identifikasi Senyawa Penghambat Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Etanol 96% Daun Yacon (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp.& Endl.] H. Robinson)

(Identification of α -glucosidase enzyme inhibitor compound from ethanol 96% extract of yacon leaves [(*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.& Endl.) H. Robinson]

ZUHELMI AZIZ^{1*}, FARHANA HANIDA AL QISTHI¹, RATNA DJAMIL¹,
SYAMSUDIN ABDILLAH¹, NANCY DEWI YULIANA² DAN PARTOMUAN
SIMANJUNTAK^{1,3}

¹ Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Jakarta Selatan 12640;
²Departemen of Food Science. Technology, Faculty of Argiculture Technology, IPB, Bogor 16680;
³Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong 16911.

Diterima 3 Desember 2018, Disetujui 5 Maret 2019

Abstrak: Daun yacon (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp.& Endl.] H. Robinson) atau di Indonesia lebih dikenal sebagai daun insulin, secara ilmiah memiliki berbagai khasiat dan salah satunya sebagai antidiabetes. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kimia penghambat enzim α -glukosidase dari ekstrak etanol 96% daun yacon. Isolasi, dan pemurnian dilakukan dengan cara fraksinasi ekstrak etanol 96% daun yacon dilakukan dengan kromatografi kolom (SiO_2 ; diklorometan-metanol-air = 5:5:1) menghasilkan 5 fraksi (Fr-1 ~ Fr-5). Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase secara *in vitro* terhadap kelima fraksi diperoleh fraksi 3 (Fr-3) sebagai fraksi teraktif dengan persentase inhibisi sebesar 87,84%. Pemurnian fraksi Fr-3 dengan KLT preparatif (SiO_2 ; n-BuOH-etanol-air = 4:1:2,2) menghasilkan isolat murni pada Fr 3-1. Identifikasi isolat murni Fr 3-1 dilakukan dengan menginterpretasi data spektra *Ultraviolet*, *Fourier Transform-Infra Red*, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, dan membandingkan data pergeseran kimia Resonansi Magnet Inti (proton dan karbon) dan ditentukan sebagai senyawa kimia nystose (GF3). Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase untuk Fr-3-1 adalah dengan IC50 sebesar 59,48 bpj.

Kata kunci: Yacon; *Smallanthussonchi folius* (Poepp. &Endl.) H.Robinson), antidiabetes;
 α -glukosidase; nystose.

Abstract: The leaves of yacon (*Smallanthussonchi folius* [Poepp. &Endl.] H. Robinson) or in Indonesia known as “Daun insulin” (Insulin leaf), scientifically has various medicinal properties and one of them as antidiabetic. The aim of this research is to know α -glucosidase enzyme inhibitor compound in the ethanol 96% extract of yacon leaves. Fractionation of ethanol extract subjected to column chromatography (SiO_2 ; dichloromethane-methanol-water = 5:5:1) gave 5 fractions (Fr -1~Fr - 5). The results of the α -glucosidase enzyme inhibition activity test *in vitro* against the five fractions obtained the 3rd fraction as the most active of 87.84%. Purification of the 3rd fraction with preparative thin layer chromatography (SiO_2 ; n-BuOH-ethanol-water = 4:1:2.2) gave pure isolate as Fr 3-1. Identification of pure isolates Fr 3-1 was carried out by interpreted spectra of Ultraviolet, Fourier Transform-Infra Red, Mass Spectra (from LC-MS) and compared data on the chemical shift of the Nuclear Magnetic Resonance (proton and carbon) and determined as Nystose (GF3) compound. The results of the α -glucosidase enzyme inhibition activity showed that Fr 3-1 has IC50 of 21.36 ppm.

Keywords: yacon; *Smallanthussonchi folius* [Poepp. &Endl.] H. Robinson, antidiabetic; α -glucosidase;
nystose

*Penulis korespondensi HP 08129294176
Alamat e-mail emi.ffup@yahoo.com

PENDAHULUAN

DIABETES melitus (DM) adalah suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah dan DM merupakan salah satu masalah utama kesehatan dunia, termasuk Indonesia⁽¹⁾. Secara epidemiologi, diperkirakan pada tahun 2030 mendatang prevalensi diabetes melitus di Indonesia mencapai 21,3 juta orang⁽²⁾. Alternatif pengobatan diabetes melitus dengan obat herbal dan salah satunya dengan pemanfaatan potensi antihiperlipidemik yang dimiliki tanaman (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp. & Endl.] H. Robinson). Yakon adalah tanaman yang berasal dari pegunungan Andez, Peru dan telah digunakan sejak lama dalam pengobatan karena nilai gizinya yang baik. Tanaman ini sudah mulai diperkebunkan oleh Anto Widy di Kali Urip, Wonosobo⁽³⁾ dan di kebun percobaan Balitro di Lembang. Akar yakon banyak mengandung air dan rasanya manis. Akar yakon kaya akan pati dengan oligofruktan yang sukar dicerna dan memiliki nilai energi yang relatif rendah. Sehingga dapat diasumsikan bahwa mengkonsumsi akar yakon secara oral tidak menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah. Disamping akar, daun dan batang yakon juga menunjukkan khasiat. Daun dan batang yakon mengandung protein dan senyawa fenolik seperti kafein, asam klorogenat, asam ferulat, dan flavonoid seperti kuersetin⁽⁴⁾. Sedangkan pada umbi terdapat fruktosa, glukosa, sukrosa, GF2 (trisakarida yang terdiri atas 1 molekul glukosa dan 2 molekul fruktosa), GF3, GF4, GF5, GF6, GF7, GF8, GF9, inulin, vitamin, mineral, dan serat⁽⁵⁾.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak etanol 96 % daun yakon memiliki aktivitas penghambat enzim α -glukosidase dengan persentase inhibisi sebesar 75,53 %, lebih tinggi dibandingkan aktivitas ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat⁽⁶⁾. Besarnya potensi antidiabetes yang dimiliki daun yakon sebagai tanaman budidaya baru di Indonesia, maka pengembangan ilmu pengetahuan tentang tanaman yakon perlu ditingkatkan, terutama untuk eksplorasi kandungan senyawa kimianya. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kimia sebagai penghambat enzim α -glukosidase dalam ekstrak etanol 96% daun yakon

BAHAN DAN METODE

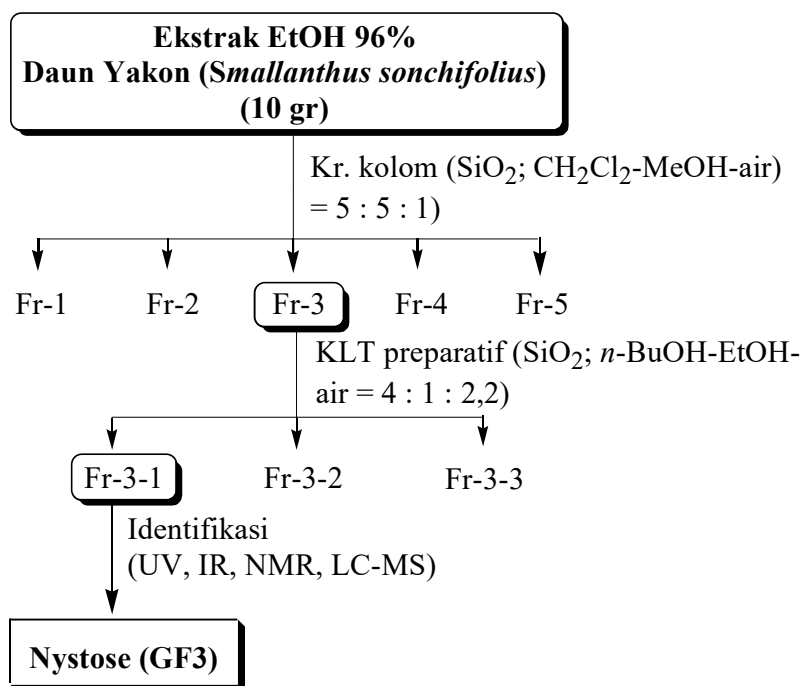
BAHAN. Ekstrak etanol 96% daun yakon (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp.& Endl.] H. Robinson), celite®

545 (Merck), silica gel 60 (Merck), metilen klorida (PT. Brataco), metanol teknis (Merck), etil asetat (PT. Brataco), etanol (Merck), aquadest, enzim α -glukosidase p-nitrofenil- α -D-gluko piranosid (Sigma Aldrich), akarbose (PT. Pratapa Nirmala), dimetilsulfoksida, KH_2PO_4 , Na_2CO_3 , n-butanol, eter, HCl, anilina, kalium hidrogen ftalat, asetonitril, serium II sulfat, metanol pro analisis (Merck), Alat. Timbangan analitik (Precisa 340A), sonikator (Branson 1510), vortex (Thermolyne), kromatografi kolom, lampu UV 254 dan 366 nm, inkubator (Grant), hot plate, spektrofotometer ultraviolet-cahaya tampak (Hitachi U-3900H), spektrofotometer FT-IR (Bruker, Tensor37), LC/MS (QMicro QQA 842 1.0), spektrometer RMI (Agilent 500 MHz), lempeng silika gel GF₂₅₄, bejana kromatografi, indikator pH, dan seperangkat alat gelas

METODE. Isolasi Dan Pemurnian Senyawa Penghambat Enzim α -Glukosidase Dari Ekstrak Etanol 96% Daun Yakon⁽⁶⁾. Sebanyak 10 g ekstrak etanol 96% daun yakon difraksinasi dengan kromatografi kolom (SiO_2 ; diklorometan-metanol-air = 5:5:1), fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis dengan KLT. Fraksi yang memiliki pola kromatogram sama digabungkan diperoleh 5 fraksi (Fr-1 ~ Fr-5), selanjutnya kelima fraksi tersebut diuji aktivitas penghambatan α -glukosidasenya. Fraksi dengan % penghambatan paling tinggi ditetapkan nilai IC_{50} , dimurnikan dengan KLT preparatif (SiO_2 ; n-butanol-etanol-air = 4:1:2,2) sampai diperoleh isolat murni. Isolat yang diperoleh diidentifikasi dengan metode spektrofotometri UV-Vis, FTIR, LCMS dan NMR. Skema kerja dapat dilihat pada Gambar 1.

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase⁽⁷⁾. Larutan stok enzim dibuat dengan melarutkan 1,0 mg enzim α -glukosidase dalam 1,0 mL 0,01M buffer fosfat (pH 7,0). Campuran reaktan terdiri dari 25 μL sampel dalam larutan DMSO 1%, 475 μL Buffer fosfat 0,1 M, dan 250 μL Subtrat PNP-G 0,5 mM. Larutan campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, setelah itu ditambahkan 250 μL enzim α -glukosidase 0,04 unit/mL dan diinkubasi selama 25 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan menambahkan 1000 μL Na_2CO_3 0,2 M, dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Akarbose digunakan sebagai kontrol positif dengan perlakuan yang sama seperti sampel.

Identifikasi. Isolat murni diidentifikasi dengan pengambilan data spektra *spektroskopi Ultraviolet, Fourier Transform-Infra Red, Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, dan ^1H - ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance.*



Gambar 1. Skema isolasi dan pemurnian senyawa kimia nystose dari daun yako

HASIL DAN PEMBAHASAN

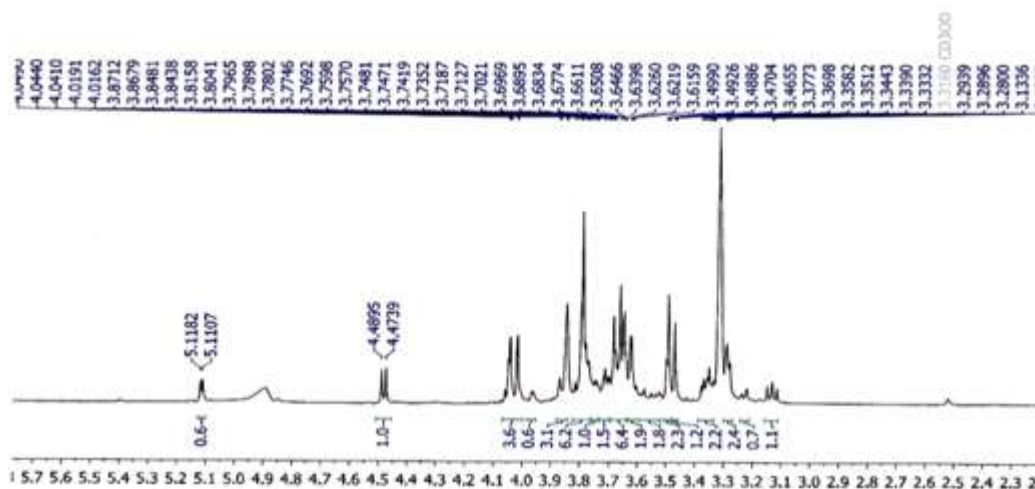
Identifikasi senyawa kimia isolat murni Fr 3-1. Hasil fraksinasi ekstrak etanol 96% dengan kromatografi kolom diperoleh 5 fraksi (Fr-1~Fr 5) kemudian dimurnikan kembali dengan KLT preparatif memberikan Fr 3-1 yang berbentuk serbuk berwarna putih. Pada spektrum ultraviolet (UV) tidak memberikan adanya serapan maksimum pada daerah 200-400 nm, yang menunjukkan bahwa struktur kimia tidak mempunyai gugus kromofor.

Hasil analisis spektra FT-IR isolat Fr 3-1 memberikan beberapa puncak yang dominan, yaitu pada *functional region* 3396,46 cm⁻¹ yang merupakan gugus fungsi hidroksil. Adanya gugus hidroksil diperkuat dengan adanya serapan gugus C-O pada *fingerprint region* 1062,35 cm⁻¹. Puncak berikutnya pada *fingerprint region* 1456,00 cm⁻¹ diinterpretasi sebagai gugus C-H (alkana). Pada spektra tidak terlihat adanya puncak spesifik pada *aromatic region*, sehingga isolat Fr 3-1 diperkirakan bukan senyawa aromatis. Hasil analisis isolat Fr 3-1 dengan *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry* (LC/MS) menunjukkan puncak kromatogram tertinggi pada waktu retensi 18,06 menit yang memberikan spektra massa pada *m/z* 717,38 (M + CH₃OH + H₂O + H), sehingga bobot molekul senyawa dalam isolat Fr 3-1

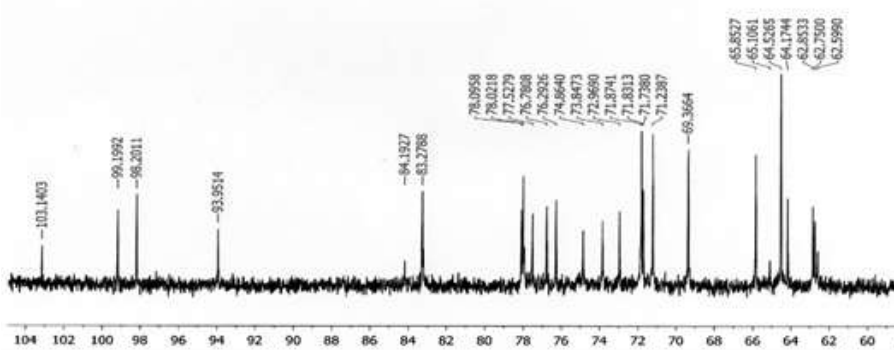
adalah *m/z* 666 g/mol. Hasil kajian pustaka mengenai kandungan senyawa kimia dalam yacon diketahui ada satu senyawa kimia yang memiliki *m/z* sebesar 666, yaitu senyawa nystose/GF3 (C₂₄H₄₂O₂₁)⁽⁶⁾.

Spektra RMI proton (1H-NMR) untuk isolat Fr 3-1 menunjukkan adanya pergeseran kimia proton pada daerah medan magnet tinggi yaitu pada δH 3,13 - 5,12 ppm yang menunjukkan adanya proton yang berdekatan dengan atom oksigen (O) yang spesifik untuk gugus gula (Gambar 2). Spektra RMI karbon untuk isolat fr 3-1 (Gambar 3) juga menunjukkan adanya pergeseran kimia karbon untuk glukosa dan fruktosa yang teridentifikasi pada δH 93,95 ppm (glu); 62,85 ppm (fruk-1); 62,75 ppm (fruk-2) dan 64,17 ppm (fruk-3) untuk masing-masing pada atom C-1; C-1'; C-1''; C-1'''". Dengan membandingkan pergeseran kimia proton dan karbon isolate Fr 3-1 dengan pergeseran kimia proton dan karbon senyawa nystose berdasarkan penelitian terdahulu^(7,8) (Tabel 1 dan 2), maka senyawa kimia isolat Fr 3-1 dapat ditentukan sebagai fruktooligosakarida/FOS, yaitu nystose/GF3 dengan rumus kimia C₂₄H₄₂O₂₁ (Gambar 4).

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α-Glukosidasi Hasil Kromatografi Kolom. Hasil uji penghambatan enzim α-glukosidase terhadap kelompok fraksi (Fr-1 ~ Fr 5), Fr 3-1 dan akarbose dapat dilihat pada Tabel 3. Aktivitas penghambatan enzim α-glukosidase paling tinggi diperoleh pada Fr-3 sebesar 87,84 % (IC₅₀ = 33,62 bpj), kemudian setelah pemurnian diperoleh aktivitas Fr 3-1 menurun menjadi 61,76 % (IC₅₀ = 59,48 bpj). Hasil ini menunjukkan



Gambar 2. Spektra RMI proton untuk isolat Fr 3-1



Gambar 3. Spektra RMI karbon untuk isolat Fr 3-1

Tabel 1. Pergeseran kimia proton (δH) isolat fr 3-1 dibandingkan dengan nystose⁽¹¹⁾

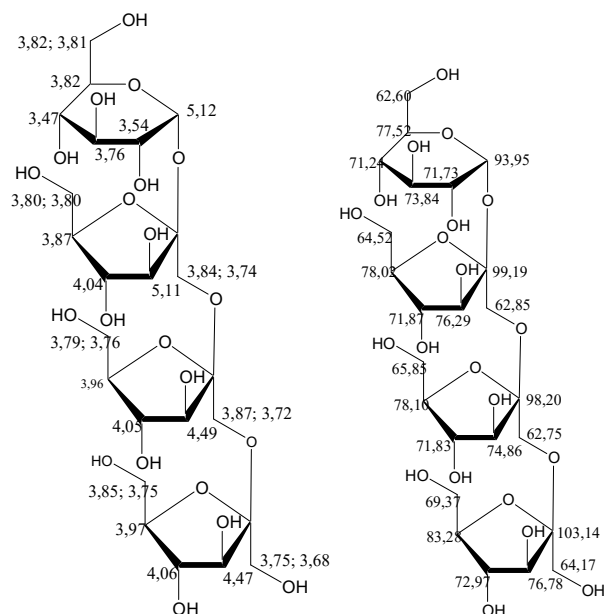
No.	δH Isolat F3-1				δH Nystose*)			
	Glu	Fru 1	Fru 2	Fru 3	Glu	Fru 1	Fru 2	Fru 3
H1	5,12	3,84	3,87	3,75	5,43	3,84	3,86	3,75
H1'	-	3,74	3,72	3,68	-	3,74	3,72	3,69
H2	3,54	-	-	-	3,54	-	-	-
H3	3,76	5,11	4,49	4,47	3,75	4,27	4,22	4,18
H4	3,47	4,04	4,05	4,06	3,47	4,04	4,07	4,10
H5	3,82	3,87	3,96	3,97	3,83	3,87	3,86	3,86
H6	3,82	3,80	3,79	3,85	3,81	3,81	3,82	3,84
H6'	3,81	3,80	3,76	3,75	3,81	3,79	3,75	3,75

Tabel 2. Pergeseran kimia karbon (δC) isolat Fr 3-1 dibandingkan dengan nystose

No.	δC Isolat x	δC Nystose *)	Jenis Karbon
1	93,95	93,30	CH (d)
2	71,73	71,90	CH (t)
3	73,84	73,40	CH (t)
4	71,24	70,00	CH (t)
5	77,52	73,20	CH (q)
6	62,60	60,90	CH ₂ (d)
1'	62,85	61,70	CH ₂ (s)
2'	99,19	104,10	C (t)
3'	76,29	77,50	CH (d)
4'	71,87	75,20	CH (t)
5'	78,02	81,90	CH (q)
6'	64,52	62,90	CH ₂ (d)
1''	62,75	61,20	CH ₂ (s)
2''	98,20	104,50	C (t)
3''	74,86	77,50	CH (d)
4''	71,83	74,70	CH (t)
5''	78,10	82,00	CH (q)
6''	65,85	63,10	CH ₂ (d)
1'''	64,17	61,53	CH ₂ (s)
2'''	103,14	104,43	C (t)
3'''	76,78	77,89	CH (d)
4'''	72,97	75,83	CH (t)
5'''	83,28	82,30	CH (q)
6'''	69,37	63,46	CH ₂ (d)

Tabel 3. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase untuk hasil kromatografi kolom dan KLT preparatif

No	Sampel/ekstrak	Inhibisi (%), pada konsentrasi 100 bpj	IC ₅₀ (bpj)
1	Fr – 1	60,81	-*)
2	Fr – 2	44,60	-
3	Fr – 3	87,84	33,62
4	Fr – 4	70,27	-
5	Fr – 5	82,43	-
6	Fr 3-1	61,76	59,48
7	Akarbose	81,82	21,36

**Gambar 4. Struktur kimia isolat Fr 3-1 (nystose)⁽¹¹⁾**

bahwa kemungkinan adanya pengaruh sinergisme dari senyawa kimia dalam daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*)

SIMPULAN

Senyawa kimia nystose telah diisolasi dan diidentifikasi dari ekstrak etanol 96% daun yakon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.& Endl.)]H.Robinson yang berpotensi sebagai penghambat enzim α -glukosidase.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan metode transit intestinal untuk memperkuat efek antidiare dari ekstrak air bunga nagasari

DAFTAR PUSTAKA

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 7th Edition. Brussels: International Diabetes Federation. <http://www.diabetesatlas.org>. 2015.
2. Depkes Republik Indonesia. Tahun 2030 prevalensi diabetes melitus di Indonesia mencapai 21,3 Juta orang. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2009; 1–2
3. Merlina M. Barabara/ Rani Nossar. Peluang Usaha: Budidaya Tanaman Obat Diabetes Mudah, Tanam Saja di Tempat Lembab. 2015. Diambil dari: <http://www.tribunnews.com/bisnis/2015/09/03/peluang-usaha-budidaya-tanaman-obat-diabetes-mudah-tanam-saja-di-tempat-lembab>. Diakses 21 Maret 2016.
4. Baroni S, Comar J F, Kemmelmeier F S, Mito M S, De Melo J O et al. . 2014. Beneficial effects of an

- hydroethanolic extract of smallanthus sonchifolius. *Int J Pharm Bio Sci* 2014 July ; 5 (3) : (P) 183 - 96
5. Lachman J, Fernández EC, Orsák M. 2003. Yacon [Smallanthus sonchifolius (Poeppl . et Endl .) H . Robinson] chemical composition and use – a review. ;2003(6):283–90.
 6. Djamil R., Aziz Z., Virginia J., Penetapan dan identifikasi fraksi aktif penghambat enzim α -glukosidase dari ekstrak etanol 96% daun yacon (Smallanthus sonchifolius (Poeppl.) H. Robinson). *Prosiding Seminar Nasional POKJANAS TOI ke-52 Tahun 2017 STIFAR Riau*. 92–6.
 7. Djamil R, Winarti W, Simanjuntak P, Syamsudin. Standardization and α -glycosidase inhibition of extracts of *Vatica pauciflora* Blume stem barks and *Smallanthus sonchifolius* leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014;3(4): 42-6.
 8. Genta SB, Cabrera WM, Mercado MI, Grau A, Catalán CA, Sánchez SS. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius* : Constituents of the most active fractions. *Chemico-Biological Interactions* 2010;185:143–52.
 9. Grethel T. Choque Delgadoa, Rodolfo Thoméb, Dirce L. Gabrielb, Wirla M.S.C. Tamashirob, Glaucia M. Pastore. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*)-derived fructooligosaccharides improves the immune parameters in the mouse. *Nutrition Research* 22 (2012) 884–92. Available online at www.sciencedirect.com. © 2012 Elsevier Inc.
 10. Juliani. Nancy D. Yuliana, Slamet Budijanto, C. Hanny Wijaya, Alfi Khatib. Senyawa Inhibitor α -Glukosidase Dan Antioksidan Dari Kumis Kucing Dengan Pendekatan Metabolomik Berbasis FTIR. *J. Teknol. dan Industri Pangan*. 2016. Vol. 27(1): 17-30
 11. Timmermans JW, De waard P, Tournuis H, Vliegthart. NMR spectroscopy of Nystose, *Carbohydrate Res.* 1993, 243, p. 379 – 84.
 12. Bruyn AD and Loo JV. The Identification by ¹H- and ¹³C-n.m.r. Spectroscopy of Sucrose, 1-Kestose, and Neokestose in Mixture Present in Plant Extracts. *Carbohydrate Res.* 211 (1991) p. 131-6.
 13. Shiomi N and Onodera S. The ¹³C-NMR Spectra of Inulo-oligosaccharides. *Agric. Biol. Chem.* (1990).54 (1), p 215-6.
 14. Joy M. Campbell et al. Selected Fructooligosaccharide (1-Kestose, Nystose, and 1F- β -Fructofuranosylnystose) Composition of Foods and Feeds. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 3076–82.

Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba

(Phytochemical Screening and Potential Antioxidant Activity of Ethanol Ekstrak of Green Leaves and Red Leaves Kastuba)

BAIQ SOPIAH^{1*}, HANDA MULIASARI², EMMY YUANITA²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

²Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Mataram

Diterima 23 Januari 2019, Disetujui 6 Maret 2018

Abstrak: Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya sehingga membuat molekul ini sangat reaktif dan tidak stabil. Radikal bebas apabila terpapar terus menerus didalam tubuh dipercaya dapat menyebabkan beberapa penyakit diantaranya aterosklerosis, iskemik, kanker, dan penuaan dini sehingga diperlukan adanya senyawa antioksidan untuk menghambat pembentukan radikal bebas. Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia aktif dan potensi aktivitas penghambatan radikal bebas dalam ekstrak etanol daun kastuba. Prosedur dari penelitian ini yaitu pengumpulan bahan, determinasi tanaman, pembuatan simplisia, ekstraksi, skrining fitokimia, serta uji penghambatan radikal bebas secara kualitatif dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui komponen senyawa kimia dari ekstrak etanol daun kastuba yang meliputi pengujian flavonoid, tannin, dan terpenoid. Potensi penghambatan radikal bebas dilakukan secara kualitatif dengan KLT pereaksi semprot DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kastuba baik daun hijau maupun daun merah kastuba mengandung senyawa flavonoid, tannin, dan terpenoid serta kedua daun sama-sama berpotensi sebagai aktivitas penghambatan radikal bebas dilihat dari bercak kuning yang dihasilkan setelah disemprot pereaksi DPPH.

Kata kunci: Uji flavonoid, tannin, terpenoid, DPPH.

Abstract: Free radicals are an atom or molecule that has unpaired electron in its outer orbital that causes made this reactive and unstable molecule. Free radicals when exposed continuously in the body are believed to cause several diseases include atherosclerosis, ischemia, cancer, and premature aging therefore, antioxidant compounds is needed to inhibit the formation of free radicals. Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) is one of the plants that has the potential as a natural antioxidant. The aim of this study was determining the content of active chemical compounds and free radical inhibitory potential of kastuba leaves ethanol extract. The procedures of this study were material collection, plant determination, simplicia production, extraction, phytochemical screening and qualitative free radical inhibition test with TLC (Thin Layer Chromatography). Phytochemical screening aim to determine the chemical compounds component of kastuba leaves ethanol extract including flavonoids, tannins, and terpenoid test. The potential of free radical inhibition was carried out qualitatively with the TLC, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) spray reagent. The results showed that kastuba leaves ethanol extract for both green leaves and red leaves contained flavonoids, tannins, and terpenoids, and both leaves had the potential as free radical inhibition that indicated by yellow spots on TLC after DPPH reaction spray.

Keywords: Test flavonoid, tannin, terpenoid, DPPH.

*Penulis korespondensi, Hp. 087760184319
e-mail baiq.chop@gmail.com

PENDAHULUAN

RADIKAL bebas merupakan suatu atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya sehingga menyebabkan molekul ini sangat reaktif dan tidak stabil(1). Senyawa radikal bebas yang menyerang tubuh merupakan perantara awal terjadinya kerusakan di dalam tubuh yang dipercayai sebagai penyebab beberapa penyakit seperti kardiovaskuler, aterosklerosis, iskemik, kanker, dan mempercepat proses penuaan(2). Radikal bebas dapat dihambat atau dicegah dengan menggunakan senyawa antioksidan(3).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd). Kastuba merupakan tanaman hias yang banyak tumbuh di wilayah tropis dan subtropis. Di beberapa negara seperti Mexico, Amerika, Eropa, Australia, dan Asia tanaman ini digunakan sebagai tanaman hias(4). Kastuba secara tradisional telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai antibakteri, infeksi kulit, patah tulang, bengkak karena terpukul, dan luka luar(5).

Berbagai macam pengobatan dilakukan untuk mengobati penyakit yang berkembang saat ini, salah satunya adalah pengobatan etnomedisin. Pengobatan etnomedisin merupakan pengobatan tradisional yang membahas terkait asal mula penyakit, sebab-sebab, cara pengobatan menurut kelompok masyarakat tertentu dan biasanya menggunakan tanaman sebagai obat. Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan masyarakat pada salah satu daerah di Lombok Timur yaitu kastuba. Berdasarkan hasil penelitian Sharif (2015) didapatkan bahwa dalam ekstrak kastuba (*E. pulcherrima*) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin serta steroid dan bagian daun yang berwarna merah pada kastuba mengandung senyawa antosianin. Senyawa fitokimia dalam tanaman ini memiliki potensi sebagai aktivitas antioksidan. Selain itu, daun kastuba juga dipergunakan sebagai obat luka, sakit gigi, dan digunakan sebagai sayuran oleh sebagian masyarakat desa Timbanuh, Kecamatan Pringgasela, Kabupaten Lombok Timur.

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan menggunakan beberapa metode seperti DPPH, xantin oksidase, tiosianat, deoksiribosa dan lain-lain. Penelitian dari Badarinath (2010) melaporkan bahwa sebagian besar peneliti yaitu sebanyak 82,24% menggunakan metode DPPH jika dibandingkan dengan metode xantin oksidase (9,26%), tiosianat (6,83%), dan deoksiribosa (1,67%) untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada ekstrak tanaman. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) lebih dipilih karena merupakan metode yang akurat, efisien, cepat dalam menentukan

profil antioksidan ekstrak tanaman dan mudah dalam preparasi sampelnya(6).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan skrining fitokimia serta penentuan aktivitas penghambatan radikal bebas menggunakan pereaksi semprot DPPH. Tanaman kastuba dipilih karena masih kurangnya penelitian dan pemanfaatan daun kastuba sebagai antioksidan yang tumbuh di daerah Lombok.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Daun kastuba yang diperoleh dari desa Timba Nuh, Kecamatan Pringgasela, Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat (NTB). Pengumpulan bahan dilakukan dengan cara memetik beberapa daun yang berwarna merah dan berwarna hijau. Pemetikan daun kastuba dilakukan secara acak, pada beberapa pohon kastuba. Daun Kastuba dipetik pada pagi hari sekitar pukul 10:00 WIB. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah plat KLT silika gel F₂₅₄, vitamin C, DPPH (1,1-diphenyl,2-pyrcrilhydrazyl), etanol 96%, metanol p.a, butanol, asam asetat glasial, aquades, kloroform, etil asetat p.a, n-hexan, AlCl₃ 10%, FeCl₃ 5%, H₂SO₄ 10%, reagen Folin-Ciocalteu, asam galat, dan Na₂CO₃ 35% jenuh.

Alat. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender (Philips), peralatan maserasi, *rotary evaporator* (Heidolph VV 2000), timbangan analitik (Fujitsu), alat-alat gelas, lampu UV 254 nm dan 366 nm, pipet tetes, *rubber bulb*, pipa kapiler, toples kaca, kertas saring, dan aluminium foil.

METODE. Determinasi Tanaman. Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram.

Preparasi Sampel. Sebanyak 2,5 kg daun merah dan 2,5 kg daun hijau kastuba disortasi terlebih dahulu untuk memisahkan kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari tumbuhan dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pengeringan, selanjutnya daun kastuba dicuci bersih dengan air yang mengalir untuk menghilangkan pengotor atau getah yang menempel pada daun.

Daun yang telah bersih kemudian diangin-anginkan untuk menghilangkan sisa-sisa air dari proses pencucian. Selanjutnya daun kastuba baik yang daun merah ataupun hijau dirajang kecil-kecil, hal ini dilakukan untuk memudahkan proses pengeringan. Metode pengeringan dilakukan dengan cara dikeringanginkan pada suhu ruangan selama 1 bulan, tujuannya untuk mengurangi kadar air, karena jika pada simplisia masih terdapat kandungan air maka jamur atau mikroorganisme lain akan cepat tumbuh. Sampel yang sudah kering dihaluskan menggunakan

blender. Tujuan pembuatan serbuk adalah untuk mengecilkan ukuran partikel sehingga mempermudah cairan penyari menembus simplisia(7).

Ekstraksi. Sebanyak 100 gram serbuk simplisia daun hijau kastuba dan 100 gram serbuk simplisia daun merah kastuba dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL kemudian ditutup dan didiamkan selama 24 jam di tempat yang terlindung dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk(7). Setelah maserasi selesai, ekstrak (maserat) disaring terlebih dahulu menggunakan kertas saring agar diperoleh bagian filtratnya. Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* (Heidolph VV 2000) pada suhu 50 °C selama 60 menit. Pemekatan dilakukan untuk menghilangkan pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi(7).

Skrining Fitokimia. Uji Flavonoid. Sampel ditotolkan pada plat KLT silika gel F_{254} . Fase gerak yang digunakan yaitu kloroform: etil asetat: butanol dengan perbandingan 5:4:1 dan $AlCl_3$ (Aluminium klorida) 10% digunakan sebagai penampak bercak. Hasil positif adanya kandungan senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna kuning setelah disemprot dengan $AlCl_3$ 10% dan berwarna biru jika dilihat dibawah sinar UV 254 nm(8).

Uji Tannin. Sampel ditotolkan pada plat silika gel F_{254} . Fase gerak yang digunakan yaitu metanol: etil asetat dengan perbandingan 7:3 dan pereaksi semprot $FeCl_3$ (Besi (III) klorida) 5% sebagai penampak bercak. Penyemprotan $FeCl_3$ 5% pada tannin terhidrolisis ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna biru kehitaman dan pada tanin terkondensasi ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna hijau-kecoklatan(9).

Uji Terpenoid. Sampel ditotolkan pada plat silika gel F_{254} . Fase gerak yang digunakan yaitu kloroform:metanol dengan perbandingan 1:3 dan pereaksi semprot H_2SO_4 (asam sulfat) 10% sebagai penampak bercak. Hasil positif adanya kandungan senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna merah kecoklatan berfluoresensi hijau jika diamati dibawah sinar UV 365 nm(10).

Uji Penghambatan Radikal Bebas secara Kualitatif dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Eluen yang digunakan yaitu larutan BAA (butanol:asam asetat glasial:air) dengan perbandingan 3:1:1. Eluen ini dibuat dengan cara mencampurkan 3 mL butanol, 1 mL asam asetat glasial dan 1 mL air ke dalam chamber kemudian dijenuhkan kurang lebih 15 menit. Ekstrak sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 mL etanol 96%, lalu ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler, dan dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen yang telah dijenuhkan. Selanjutnya, eluen dibiarkan merambat

hingga mencapai batas plat KLT yang telah ditandai. Setelah dielusi, ditunggu hingga plat KLT kering kemudian disemprot dengan menggunakan larutan DPPH 0,1 mM dan dibiarkan selama 30 menit lalu diamati perubahan warna yang terjadi(11). Hasil positif adanya aktivitas penghambatan radikal bebas ditandai dengan terbentuknya noda berwarna kuning pucat setelah disemprot dengan latar belakang ungu. Bercak noda diamati dengan menggunakan sinar UV 254 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

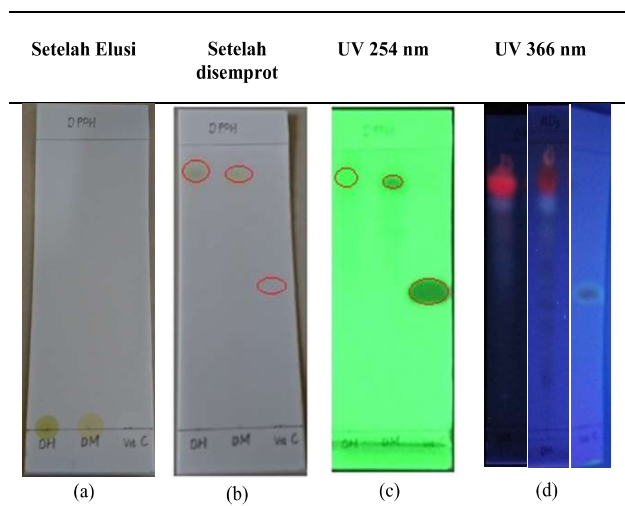
Uji kualitatif ekstrak etanol daun kastuba dilakukan dengan uji penghambatan radikal bebas menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan pereaksi semprot DPPH. Selanjutnya dilakukan uji kualitatif kandungan senyawa dalam ekstrak etanol daun kastuba dengan KLT meliputi senyawa flavonoid, tannin dan terpenoid. Deteksi bercak KLT dapat dilihat secara fisika pada lampu UV 256 nm dan 366 nm dan secara kimia dengan menggunakan pereaksi semprot.

Pada lampu UV 254 nm, lempeng akan berfluoresensi sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm dan 366 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluorosensi yang terdapat pada lempeng. Fluorosensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi(12).

Selain itu, nilai R_f juga ditentukan. Nilai R_f dapat dijadikan bukti dalam identifikasi senyawa. Bila nilai R_f memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip dengan pembandingnya. Nilai R_f merupakan perbandingan jarak yang ditempuh eluen dan fase gerak pada plat KLT. Nilai R_f digunakan sebagai nilai perbandingan relatif antar sampel. Senyawa yang memiliki R_f yang lebih besar berarti memiliki kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Jika R_f terlalu tinggi, maka kepolaran eluen harus dikurangi. Sebaliknya jika R_f terlalu rendah maka kepolaran eluen harus ditambah(12). Hasil penelitian menunjukkan bercak berwarna kuning setelah disemprot dengan pereaksi DPPH dengan latar belakang ungu.

Eluen yang digunakan pada uji ini adalah BAA (butanol : asam asetat glasial : air) dengan perbandingan 3 : 1 : 1. Senyawa yang telah terelusi disemprot dengan pereaksi semprot DPPH. Berdasarkan Gambar 1 hasil uji kualitatif penghambatan radikal bebas ditunjukkan dengan bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu setelah disemprot dengan pereaksi DPPH(13).

Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun merah kastuba dan ekstrak etanol daun hijau kastuba memiliki aktivitas penghambatan radikal bebas dilihat dari bercak berwarna kuning yang telah dihasilkan. Spot tersebut tidak terlihat di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm yang artinya bahwa preaksi semprot DPPH tidak dapat terlihat dibawah lampu UV 254 dan 366 nm dikarenakan rentang panjang gelombang DPPH adalah 400-600 nm.



Gambar 1. Hasil uji kualitatif penghambatan radikal bebas dengan pereaksi semprot DPPH.

Keterangan : Gambar (a) Hasil uji kualitatif daun hijau dan merah kastuba serta vitamin C setelah dielusi; Gambar (b) Hasil uji kualitatif sampel dan vitamin C setelah disemprot dengan DPPH; Gambar (c) Hasil uji kualitatif sampel dan vitamin C dilihat pada lampu UV 254 nm; Gambar (d) Hasil uji kualitatif sampel dan vitamin C dilihat pada lampu UV 366 nm.

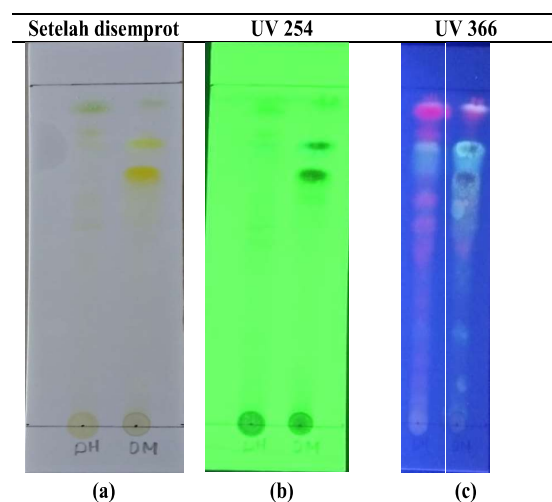
Berdasarkan Tabel 1, nilai Rf yang dihasilkan untuk masing-masing ekstrak etanol daun merah kastuba dan ekstrak etanol daun hijau kastuba adalah 0,86 dan 0,85. Sedangkan untuk vitamin C memiliki nilai Rf sebesar 0,48. Vitamin C digunakan sebagai standar dikarenakan kemampuannya memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin E yaitu 14,79 µg/mL (14).

Karena letak spot dan nilai Rf yang hampir sama antara daun merah dan daun hijau kastuba, kemungkinan senyawa yang terkandung juga hampir sama. Hal ini sesuai dengan penelitian Windono (2012) yang menyatakan bahwa nilai Rf 0,85 – 0,87

diasumsikan sebagai senyawa flavonoid karena menunjukkan warna merah dan berfluoresensi kuning setelah dihidrolisis, senyawa yang diduga adalah flavonol. Aktivitas sebagai antioksidan dimiliki oleh sebagian besar flavonoid karena adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya (15).

Skrining fitokimia dilakukan terhadap beberapa golongan senyawa kimia yang termasuk senyawa fenolik. Beberapa golongan senyawa yang diuji adalah flavonoid, tannin, dan terpenoid. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun merah kastuba dan ekstrak etanol daun hijau kastuba sama-sama mengandung senyawa kimia flavonoid, tannin dan terpenoid.

Berdasarkan Gambar 2 diketahui bahwa pada gambar (a) setelah disemprot $AlCl_3$ 10% bercak lebih terlihat dibandingkan sebelum disemprot dengan $AlCl_3$ 10%. Ekstrak etanol daun merah kastuba memiliki kandungan flavonoid yang lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak etanol daun hijau kastuba dilihat dari intensitas warna yang dihasilkan. Ekstrak etanol daun merah maupun hijau kastuba dibawah lampu UV 366 nm terlihat berwarna biru dengan intensitas warna pada ekstrak etanol daun merah kastuba lebih jelas.



Gambar 2. Hasil uji kualitatif flavonoid.

Keterangan: Gambar (a) Hasil uji kualitatif flavonoid setelah disemprot $AlCl_3$ 10%; Gambar (b) Hasil uji kualitatif flavonoid dilihat dibawah lampu UV 254 nm; Gambar (c) Hasil uji kualitatif flavonoid dilihat dibawah lampu UV 366 nm

Tabel 1. Nilai Rf ekstrak etanol dengan fase gerak BAA (3:1:1).

Sampel	Rf	Sesudah dielusi	Sesudah disemprot DPPH
Daun Hijau Kastuba	0,85	Hijau	Hijau Kekuningan
Daun Merah Kastuba	0,86	Kuning Kemerahan	Kuning Kemerahan
Vitamin C	0,48	Putih	Kuning

Tabel 2. Hasil uji kualitatif kandungan senyawa ekstrak etanol kastuba.

No	Golongan Senyawa	Ekstrak etanol daun kastuba		Pereaksi	Keterangan
		Daun merah	Daun hijau		
1.	Flavonoid	++	+	AlCl ₃ 10% (Aluminium klorida)	Hasil (+) Bercak berwarna kuning setelah disemprot AlCl ₃ 10 % dan Hasil (+) bercak berwarna kuning atau biru setelah dilihat pada lampu UV 366 nm ⁽⁵⁾ .
2.	Tannin	++	+	FeCl ₃ (Besi (III) klorida) 5%	Hasil (+) Bercak berwarna hitam setelah disemprot FeCl ₃ 5% dan tidak terlihat jika dilihat pada lampu UV 254 nm dan 366 nm ⁽⁹⁾ .
3.	Terpenoid	+	+	H ₂ SO ₄	Hasil (+) Bercak berwarna merah muda kecoklatan setelah disemprot H ₂ SO ₄ dan Hasil (+) Merah kecoklatan setelah dilihat pada lampu UV 366 nm ⁽¹⁰⁾ .

Keterangan (+) = ada

Tabel 3. Nilai Rf hasil elusi ekstrak dengan fase gerak kloroform:etil asetat:butanol (5:4:1)

Sampel	Rf	Sesudah dielusi	Sesudah disemprot AlCl ₃		
			Visual	UV 254 nm	UV 366 nm
Daun hijau kastuba	0,85	Kuning	Kuning	Biru	Biru
	0,65	Kuning	Kuning	Biru	Biru
	0,86	Kuning Kemerahan	Kuning	Biru	Biru
Daun Merah Kastuba	0,76	Kuning Kemerahan	Kuning	Biru	Biru
	0,66	Kuning Kemerahan	Kuning	Biru	Biru
	0,51	Kuning Kemerahan	Kuning	Biru	Biru

Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 3 dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun kastuba, baik daun hijau maupun daun merah kastuba sama-sama memiliki kandungan senyawa flavonoid. Hal ini nampak terlihat dibawah lampu UV 366 nm ditandai dengan bercak berwarna biru dengan nilai Rf beragam pada masing-masing spot. Flavonoid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan⁽¹⁵⁾.

Berdasarkan Gambar 3, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun kastuba baik daun berwarna hijau maupun daun merah kastuba positif mengandung senyawa kimia tannin, hal ini dapat terlihat dari bercak berwarna hitam yang dihasilkan. Namun, kandungan

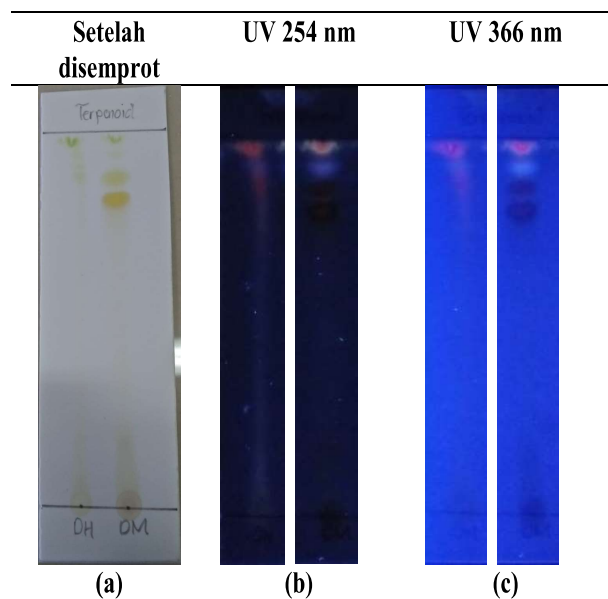
tannin dari daun kastuba berwarna merah lebih banyak dibandingkan daun berwarna hijau dilihat dari bercak biru kehitaman yang dihasilkan setelah disemprot dengan FeCl₃ 5%. Tannin merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan⁽¹⁵⁾.

Berdasarkan Gambar 4, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun kastuba baik daun kastuba berwarna merah maupun daun kastuba berwarna hijau sama-sama positif mengandung terpenoid. Hal ini terlihat dari warna yang dihasilkan setelah disemprot dengan H₂SO₄ adalah merah kecoklatan. Terpenoid mempunyai aktivitas sebagai antioksidan⁽¹⁵⁾.



Gambar 3. Hasil uji tannin.

Keterangan: Gambar (a) Hasil uji kualitatif tannin setelah dielusi dengan fase gerak metanol:air (6:4); Gambar (b) Hasil uji kualitatif tannin setelah disemprot dengan FeCl_3 5 %.



Gambar 4. Hasil uji terpenoid .

Keterangan: Gambar (a) Hasil uji kualitatif terpenoid setelah disemprot dengan H_2SO_4 ; Gambar (b) Hasil uji kualitatif terpenoid setelah dilihat dibawah lampu UV 254 nm; Gambar (c) Hasil uji kualitatif terpenoid setelah dilihat dibawah lampu UV 366 nm

Tabel 4. Nilai Rf hasil elusi ekstrak dengan fase gerak kloroform:metanol (1:3).

Sampel	Rf	Sesudah dielusi	Sesudah disemprot H_2SO_4		
			Visual	UV 254 nm	UV 366 nm
Daun hijau kastuba	0,79	Hijau	Hijau	Merah	Fluorosensi merah
Daun merah kastuba	0,78	Kuning kemerahan	Kuning kemerahan	Merah	Fluorosensi merah
	0,83	Kuning kemerahan	Kuning kemerahan	Merah	Fluorosensi merah

Pada Tabel 4 di atas, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun kastuba baik daun berwarna hijau maupun daun merah kastuba memiliki nilai Rf yang hampir mirip yaitu 0,79 dan 0,78 yang artinya bahwa keduanya mengandung senyawa terpenoid yang jenisnya sama. Hal ini juga terlihat dari bercak berwarna merah muda kecoklatan setelah disemprot H_2SO_4 dan dilihat pada lampu UV 366 nm(10).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kastuba, baik daun kastuba berwarna merah maupun daun kastuba berwarna hijau memiliki kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, tannin, dan terpenoid serta berpotensi memiliki aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., and Taniguchi, H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid its Related Compounds. *Journal of Agricultura*. 2009. Vol 50.
2. Aseervatham, G.S.B., Sivasudha, T., Jeyadevi, R., and Arul,A., D. Environmental Factors and Unhealthy Lifestyle Influence Oxidative Stress in Humans-An Overview. *Journal springer*. 2013. Vol. 20.
3. Kunwar, A., and Priyadarsini K.I. 2011. Free Radicals, Oxidatives Stress And Infortance of Antioxidant in Human Health. *J. Med Allied Sci*. 2011. 1(2).
4. Islam, M. A., Toherstensen., and Clarke. *Poinsettia (Euphorbia Pulcherrima Willd ex. Klotzsch)*. Article in *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*. 2015. Vol. 1224.
5. Yakubu, A.I and Mukhtar, M.D. In Vitro Antimicrobial Activity of Some Phytochemical Fraction of *Euphorbia*

- Pulcherrima* L. (Poinsettia). Journal of Medicinal Plant Research. 2011. 5(12).
6. Sunarni, T., Pramono, S., dan Asmah R. Flavonoid Antioksidan penangkal radikal dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (B.I). Majalah Farmasi Indonesia. 2007. 18(3)
 7. Anief, M. Ilmu Meracik Obat. Yogyakarta: UGM Press; 2010. hal. 34-6.
 8. Marliana, S. D., Suryanti, V., dan Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi lapis Tipis Komponen Kimia Buah labu silam (*Sechium edule* Jacq. Swartz dalam Ekstrak etanol. Jurnal Universitas Sebelas Maret. 2005. Diakses dari biosains.mipa.uns.ac.id/F/F0301/F030106.pdf pada tanggal 7 januari 2019.
 9. Banu, R.H.,Nagarajan, N. TLC and HPTLC Fingerprinting of Leaf Extracts of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merril. Journal of Pharconognosy and Phytochemistry. 2014. 2(6).
 10. Ningsih, D.r., Zusfahair dan Dwi, K. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. Jurnal Universitas Jenderal Soedirman. 2016. Diakses dari <https://ojs.jmolekul.com/ojs/index.php/jm/article/viewFile/199/201> pada tanggal 7 januari 2019.
 11. Ghosal, M. and Mandal, P. 2012. Phytomical Screening and Antioxidant Activities Of Two Selected “Bihi” Fruits Used as Vegetables In Darjeeling Himalaya. Int. Jurnal Phar.Sci. 2012. 4(2).
 12. Gandjar, I.G., Rohman, A. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2007.hal. 253-4, 353-60.
 13. Banu, R.H.,Nagarajan, N. TLC and HPTLC Fingerprinting of Leaf Extracts of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merril. Journal of Pharconognosy and Phytochemistry. 2014. 2(6).
 14. Lung, J.K.S., dan Dika P.D. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A,C,E dengan metode DPPH. Jurnal Universitas Padjajaran. 2017. Diakses dari lib.ui.ac.id/file?file=pdf/abstrak-77086.pdf pada tanggal 7 januari 2019.
 15. Hakim, A. Meningkatkan Kualitas Pembelajaran Kimia Bahan Alam melalui Praktikum. Mataram: Penerbit Arga Puji Press; 2016. hal. 48-9.

Analisis Kebutuhan Pasien pada Pelayanan Kefarmasian di Klinik Rawat Jalan RSUD dr. Soebandi Jember: Studi Kasus Layanan Resep

(Pharmaceutical Services Patient Needs Analysis in Out Patient Department RSUD dr. Soebandi Jember: Case Study Prescription Services)

ZORA OLIVIA^{1,2*}, UMI ATHIJAH², WAHYU UTAMI²

¹Progam Studi Gizi Klinik Jurusan Kesehatan Politeknik Negeri Jember

²Program Magister Ilmu Farmasi Minat Manajemen dan Kebijakan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya , 60286

Diterima 29 Januari 2019, Disetujui 6 Maret 2019

Abstrak: Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kebutuhan obat terkait dalam pelayanan farmasi di apotek layanan resep khusus. Penelitian deskriptif ini dilakukan pada pasien rawat jalan yang menebus resep di apotek Rumah Sakit Dr. Soebandi Jember. Sebuah sampel dari populasi ini adalah 557 pasien yang diambil dengan teknik sampling dengan *stratified random sampling*. Pengambilan data dalam penelitian ini menggunakan instrumen kuesioner. Dari data kebutuhan pasien pada pelayanan farmasi, sebagian besar pasien memiliki kebutuhan untuk terapi pengobatan yang indikasi tepat sebesar 85,6 %, efektif sebesar 84,9%, aman sebesar 77,4% dan dapat digunakan sesuai dengan aturan pakai sebesar 94,4%. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa kebutuhan pasien di pelayanan farmasi indikasi yang tepat, efektif, aman, dan dapat digunakan sesuai dengan aturan pakai. Keempat komponen kebutuhan pasien akan diterima pasien jika pelayanan farmasi diberikan dengan prinsip asuhan kefarmasian dan hanya bisa diberikan oleh apoteker. Adanya *reimbursement* kepada apoteker dari pihak asuransi karena pelayanan farmasi dapat berjalan sesuai asuhan kefarmasian dan pemberi asuhan kefarmasian adalah apoteker. *Reimbursement* yang akan diganti oleh perusahaan asuransi seharusnya diberikan kepada apoteker di apotek karena perawatan farmasi tidak bisa berjalan jika tidak ada apoteker.

Kata kunci: Kebutuhan, asuhan kefarmasian, apoteker, farmasi, layanan farmasi, penggantian.

Abstract: The aim of this research was to know the drug related need in the pharmacy service at pharmacy special prescription service. Descriptive study was done to out patient who fulfill prescription in the pharmacy Dr Soebandi Jember Hospital. A sample of this population is 557 patients taken with sampling techniques with stratified random sampling. Retrieval of data in this study using a questionnaire instrument. From the data needs of the patient at the pharmacy pharmacy services in the majority of patients explain need to therapy appropriate treatment indication for 85.6 %, at effective 84.9 %, at safely 77.4 % and can be used according to the rules of use of 94.4 %. Based on these data it can be concluded that the needs of patients at the pharmacy services are appropriate indications, effective, safe and can be used according to the rules of use. The requirement can be achieved due to appropriate pharmacy services running and providing pharmaceutical care is a pharmacist. Reimbursements are reimbursed by the insurance company should not be given to Pharmacist Pharmacy for pharmaceutical care can not walk if no pharmacist.

Keywords: Need , Pharmaceutical Care, Pharmacist, Pharmacy, Pharmacy Service, Reimbursement.

* Penulis korespondensi, Hp. 08158800410
e-mail zorra_7387@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

PENINGKATAN kesejahteraan rakyat dapat diwujudkan dengan membentuk suatu sistem jaminan sosial nasional. Pemerintah membentuk Badan Penyelenggara Jaminan Sosial untuk membuat sistem tersebut. Pembentukan BPJS sesuai Undang-Undang Nomor 24 Tahun 2011(1).

Salah satu bentuk pelayanan kesehatan yang dijamin oleh BPJS selaku pihak asuransi adalah pelayanan obat. Hal ini dikarenakan pelayanan obat atau pelayanan farmasi merupakan pelayanan kesehatan tingkat pertama atau pelayanan kesehatan *non specialistic* yang dijamin oleh BPJS(2). Sebagai pelayanan kesehatan primer bahkan dipertegas oleh Smith(3), bahwa penyedia pelayanan kesehatan primer adalah Apoteker karena dapat diakses di banyak masyarakat dan memiliki peluang besar dalam memberikan nasehat dalam mengelolah masalah kesehatan dan memiliki kontribusi besar dalam pelayanan kesehatan(4,5).

Berdasarkan Undang-Undang no. 24 tahun 2011 pasal 13, BPJS berkewajiban untuk memberikan manfaat kepada seluruh masyarakat. Pada pelayanan kefarmasian, manfaat yang diterima peserta asuransi adalah manfaat dari obat yang terdiri dari: tepat indikasi, efektif, aman, dan peserta dapat menggunakan obat sesuai aturan penggunaan(6).

Tepat indikasi, efektif, aman, patuh atau kemampuan pasien menggunakan obat merupakan hasil terjemahan Apoteker terhadap kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian yang diekspresikan pasien melalui pemahaman, harapan, perhatian dan tingkah laku pasien terhadap terapi pengobatan yang diterima(7). Dalam asuhan kefarmasian, Apoteker bertanggungjawab menjamin ketepatan indikasi, keefisienan, keamanan terapi obat, dan kepatuhan pasien menggunakan obat dengan melakukan praktek berupa menilai kebutuhan pasien terkait terapi obat, membuat rencana asuhan, menindaklanjuti rencana asuhan dan mengevaluasinya(7).

Efektif, aman, dan kenyamanan merupakan manfaat obat yang digunakan sebagai dasar Apoteker meminta kompensasi dari pelayanan yang diberikan kepada pasien(6). Sebuah profesionalitas praktek akan berlangsung lama jika diberi suatu kompensasi. Hal ini juga disampaikan oleh Tamblin, R dan Batitista (8). bahwa kompensasi dapat menjadi sebuah perangsang bagi praktisi Apoteker menjadi lebih baik dalam memberikan pelayanan kefarmasian. Bentuk kompensasi ini berupa biaya profesional yang diberikan kepada Apoteker(9).

Salah satu bentuk pembayaran terhadap biaya profesional Apoteker adalah melalui pihak asuransi

yang disebut dengan *reimbursement*. Apoteker sebagai *health care provider* sehingga pantas untuk diganti (*reimburse*) jasanya oleh lembaga asuransi, dibawah undang-undang sosial yang mengaturnya(10).

Di Indonesia, Apoteker atau tenaga kefarmasian termasuk tenaga kesehatan atau *health care provider* yang memberikan pelayanan kesehatan sesuai dengan pernyataan pada Undang-undang no 23 tahun 1992 dan undang-undang no 36 tahun 2009. Namun dibelum diatur bahwa Apoteker menerima *reimbursement* dari pihak asuransi(11,12).

Undang-undang No. 24 tahun 2011, pasal 11 adanya kesepakatan tentang reimbursement antara BPJS dengan fasilitas kesehatan salah satunya Apotek sebagai tempat Apoteker untuk memberi pelayanan kefarmasian. sedangkan menurut Rappaport(13), apotek identik dengan proses dispensing sehingga manfaat yang diterima pasien hanya obat yang diresepkan dokter. perolehan manfaat berupa terapi obat yang tepat indikasi, efektif, aman dan dapat dipatuhi oleh pasien didapat dengan berjalannya dispesing dan asuhan kefarmasian saling berdampingan(13).

Pemberi asuhan kefarmasian adalah Apoteker bukan Apotek(13). Pelayanan obat atas dasar resep dilakukan oleh tenaga kesehatan yang yang memiliki keahlian dan kewenangan sesuai peraturan perundang-undang, yaitu Apoteker(11).

Berdasarkan penjelasan diatas, terdapat permasalahan yang mendasar yaitu apakah yang dibutuhkan pasien terhadap pelayanan kefarmasian, obat saja atau asuhan kefarmasian. sehingga dapat menilai apakah Apotek atau Apoteker yang seharusnya melakukan kesepakatan dengan BPJS sebagai pihak asuransi atas manfaat yang diterima pasien. Oleh sebab itu peneliti merasa perlu untuk melakukan penelitian untuk mengetahui kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian di Apotek

BAHAN DAN METODE

BAHAN.

Alat. Kuesioner untuk menilai kebutuhan Pasien pada pelayanan kefarmasian

METODE. Penelitian yang dilakukan tergolong penelitian deskriptif yaitu penelitian yang dilakukan dengan tujuan utama untuk membuat gambaran atau deskripsi tentang kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian di Apotek secara objektif.

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien rawat jalan di Apotek RSUD dr Soebandi kabupaten Jember yang bersedia menjadi responden. Jumlah rata-rata populasi pasien rawat jalan RSUD dr Soebandi tiap bulan adalah 6839 orang. Sampel adalah pasien yang diambil dari populasi dan mewakili populasi,

yang mendapatkan resep rawat jalan dan mengambil obat di Apotek rumah sakit dr Soebandi kabupaten Jember dengan kriteria inklusi: berusia ≥ 17 tahun, pasien yang bersedia mengisi kuesioner, pasien yang bisa baca tulis, pasien rawat jalan yang datang berobat dan mendapatkan resep pada periode November 2013. Besar sampel sebesar 557 orang didapat dengan menggunakan rumus:

$$n = \frac{\left[z_{1-\frac{\alpha}{2}} \right]^2 p(1-p)N}{d^2 (N-1) + \left[z_{1-\frac{\alpha}{2}} \right]^2 p(1-p)}$$

Dimana n = jumlah sampel minimum; $z_{1-\frac{\alpha}{2}}$ = nilai distribusi normal baku (tabel z) pada α tertentu. karena $\alpha = 0,05$ maka nilainya 1,962; p = proporsi, jika tidak diketahui nilai proporsi di penelitian sebelumnya maka nilai p adalah 0,5; d = kesalahan (absolut) yang dapat ditolerir sebesar 0,05; N = jumlah populasi.

Pengambilan sampel dengan teknik dengan metode sampel strata (*Stratified Random Sampling*) berdasarkan strata asuransi yakni pasien ASKES, Umum, JKM dan asuransi lain. Periode penelitian ini dilakukan dari 1 November sampai 30 November 2013.

Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan kuesioner yang meliputi karakteristik pasien dan kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian. Data karakteristik pasien yang diambil meliputi: umur, jenis kelamin, pendidikan dan status asuransi kesehatan pasien. variabel kebutuhan pasien yang diamati adalah tepat indikasi, aman, nyaman, dan patuh. Analisa penelitian yang dilakukan adalah dengan cara analisis deskriptif dengan tabel distribusi frekuensi karakteristik pasien dan kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan data dengan menggunakan kuisoner yang sudah valid karena memberikan hasil uji validitas memberikan nilai r hitung $> 0,3$ dan uji realibilitas nilai *Cronbach's Alpha* sebesar 0,808 atau $> 0,6$. Untuk memenuhi tujuan penelitian maka dilakukan penelitian di Apotek RSUD dr Soebandi. Pemilihan RSUD dr. Soebandi kabupaten Jember sebagai tempat penelitian dikarenakan apotek ini melayani asuransi kesehatan milik pemerintah dan swasta sehingga dapat menjangkau pasien yang tingkat ekonomi rendah hingga yang tinggi dan sebagai salah satu fasilitas yang ditunjuk oleh BPJS untuk menjalankan SJSN, hubungan teraupetik di Rumah Sakit tidak hanya antara pasien dan apoteker tetapi dokter, tenaga medis lainnya saling terkait satu sama lain. sehingga

keberadaan dokter masih dalam satu lingkungan dengan apoteker dan memiliki rekam medik sebagai bukti kondisi medis seseorang.

Pada penelitian ini, kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian dibatasi pada pelayanan resep. pemilihan penelitian pada pelayanan resep karena Resep merupakan bagian dari hubungan profesional antara pembuat resep yaitu dokter, dokter gigi, dokter hewan dengan apoteker dan pasien. Hal ini yang menunjukkan tanggung jawab apoteker kepada dokter dan pasien untuk memberikan pelayanan kefarmasian yang berkualitas dan dapat memenuhi kebutuhan pasien terhadap obat(9).

Resep memuat informasi pembuat resep, identitas dan kondisi medis pasien dan obat yang digunakan sebagai alat terapi untuk meningkatkan kualitas hidup. Berdasarkan resep, apoteker dapat menggali dan menilai kebutuhan pasien(9). Pelayanan Resep merupakan salah satu pelayanan kefarmasia di apotek yang memiliki tahapan-thapan pelayanan khusus sesuai yang tercantum pada Peraturan Menteri Kesehatan No 73 Tahun 2016(14).

Berdasarkan Tabel 1 tentang distribusi frekuensi jenis kelamin responden, persentase jenis kelamin responden perempuan lebih tinggi sebesar 58% dibandingkan laki-laki. Dari segi kesehatan, pasien perempuan memiliki tingkat morbiditi atau kesakitanya lebih tinggi frekuensi sakit perempuan lebih sering terutama stress memiliki kebutuhan terhadap pelayanan kefarmasian lebih besar dari pada laki-laki(15).

Karakteristik pasien kedua yang diamati pada penelitian ini adalah usia. pada Tabel 1 tentang distribusi frekuensi usia responden, Mayoritas responden berada pada rentang usia dewasa (28– 60 tahun) sebesar 53,5%. Usia tua atau > 60 tahun memiliki kondisi fisiologis yang berkurang sehingga mudah terkena penyakit. Karena berkurangnya kemampuan fisiologis, usia tua memiliki kebutuhan terhadap pelayanan kefarmasian lebih besar(15).

Karakteristik pasien ketiga yang diamati pada penelitian ini adalah tingkat pendidikan. Pada tabel 1 tentang distribusi frekuensi tingkat pendidikan responden, Mayoritas pasien berpendidikan tamat menengah sebanyak 57,3%. Kesehatan juga dipengaruhi tingkat pendidikan. semakin tinggi pendidikan seseorang maka semakin tinggi tingkat kesadaran kesehatan karena pendidikan digunakan oleh seorang individu untuk meningkatkan kemampuan kognitif dalam memikirkan terapi obat yang akan dijalani maka semakin tinggi kebutuhan seseorang untuk mendapatkan informasi obat yang benar. Karakteristik pasien ke empat yang diamati pada penelitian ini adalah status asuransi. Mayoritas pasien

Tabel 1. Distribusi frekuensi kebutuhan pasien berdasarkan karakteristik pasien.

No	Karakteristik	Jumlah (n)	(%)
1	Usia (tahun)		
	17-27	191	34,3
	28-60	298	53,5
	>60	68	12,2
2	Jenis kelamin		
	Laki-laki	232	42
	Perempuan	325	58
3	Pendidikan		
	Tidak sekolah	3	0,5
	Pendidikan dasar	83	14,9
	Pendidikan menengah	319	57,3
	Pendidikan tinggi	152	27,3
4	Asuransi kesehatan		
	Askes	339	60,9
	Tidak ada biaya sendiri	138	24,8
	Jkm	66	11,8
	Asuransi lain	14	2,5

yang menjadi responden sebesar 60,9 % adalah pasien ASKES karena pasien ASKES termasuk masyarakat golongan menengah ke atas. Tingkat perekonomian pasien mempengaruhi kondisi kesehatan seseorang. Tingkat perekonomian rendah mengalami penurunan pertumbuhan sehingga kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian semakin meningkat(15).

Variabel kebutuhan pertama yaitu variabel tepat indikasi. Berdasarkan Tabel 2, mayoritas pasien menyatakan butuh terhadap tepat indikasi sebesar 85,6% dan 14,4% menyatakan tidak butuh. Variabel kebutuhan kedua yaitu variabel efektif. Mayoritas pasien menyatakan butuh terhadap terapi pengobatan yang efektif sebesar 84,9 % dan 15,5% menyatakan tidak butuh. Variabel kebutuhan ketiga yaitu variabel aman.

Mayoritas pasien menyatakan butuh terhadap terapi pengobatan yang aman sebesar 77,4% dan 22,6% menyatakan tidak setuju. Variabel kebutuhan keempat yaitu variabel patuh. Mayoritas pasien

menyatakan butuh terhadap terapi pengobatan yang dapat digunakan sesuai aturan penggunaan obat sebesar 94,4% dan 5,6% menyatakan tidak butuh. Berdasarkan perhitungan prosentase variasi keempat, diketahui bahwa prosentase variasi tepat indikasi, efektif, aman, patuh sebesar 22%, 14,6 % , 2,12%, 3,8%. jika nilai variasi variabel > 30 % maka penyajian data berdasarkan nilai rata-rata masing-masing variabel.

Berdasarkan Tabel 3 tentang nilai rata-rata variabel diatas dapat disimpulkan bahwa pasien membutuhkan terapi pengobatan yang tepat indikasi, efektif, aman dan dapat digunakan sesuai aturan penggunaan. hasil ini sesuai yang disampaikan oleh Rovers *et al*(16) , yang mengatakan bahwa terdapat lima kunci kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian yaitu: pasien memiliki sesuatu ketepatan indikasi tiap obat yang diminum, terapi obat yang digunakan pasien efektif, terapi obat yang digunakan pasien aman dan pasien dapat mematuhi terapi obat punya dan aspek lainnya

Tabel 2. Distribusi frekuensi kebutuhan pasien pada pelayanan kefarmasian

No	Variabel	Jumlah (n)	(%)
1	Tepat Indikasi		
	butuh	80	14,4
	tidak butuh	447	85,6
2	Efektif		
	butuh	84	15,1
	tidak butuh	473	84,9
3	Aman		
	butuh	126	22,6
	tidak butuh	431	77,4
4	Patuh		
	butuh	31	5,6
	tidak butuh	526	94,4

Tabel 3. kebutuhan pasien berdasarkan nilai rata-rata pervariabel

Variabel	Nilai Rata-Rata	Klasifikasi	Kesimpulan
Tepat Indikasi	9,6	Butuh:3-8	Butuh
		Tidak Butuh :9-12	
Efektif	6,3	Butuh:2-5	Butuh
		Tidak Butuh :6-9	
Aman	9,3	Butuh:3-8	Butuh
		Tidak Butuh :9-12	
Patuh	12,6	Butuh:4-10	Butuh
		Tidak Butuh :11-6	

yang terdapat pada rencana nya.

Terapi pengobatan tepat indikasi, efektif, aman dan dapat digunakan sesuai aturan penggunaan dapat terwujud jika asuhan kefarmasian dijalankan(7). Asuhan kefarmasian dijalankan oleh Apoteker(7). Asuhan kefarmasian tidak dapat dijalankan jika pelayanan kefarmasian tidak dilakukan apoteker atau dilakukan apotek karena apotek identik dengan proses dispensing(13). Sehingga manfaat yang diterima pasien hanya obat bukan Terapi pengobatan tepat indikasi, efektif, aman dan dapat digunakan sesuai aturan penggunaan.

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No 72 Tahun 2016 tentang standard pelayanan farmasi dirumah sakit bab dua menyatakan bahwa pelayanan kefarmasian merupakan pendekatan profesional yang bertanggung jawab dalam menjamin penggunaan obat dan alat kesehatan sesuai indikasi, efektif, aman dan terjangkau oleh pasien melalui penerapan pengetahuan, keahlian, ketrampilan dan perilaku apoteker serta bekerja sama dengan pasien dan profesi kesehatan lainnya(17).

Kegiatan pelayanan kefarmasian di apotek rumah sakit terdiri pengkajian resep, dispensing, pemantauan dan pelaporan efek samping obat, pelayanan informasi obat, dan konseling obat. kegiatan pengkajian resep dilakukan dengan tujuan agar apoteker dapat menilai bahwa terapi obat yang diresepkan tepat indikasi, efektif dan aman berdasarkan informasi pasien, terapi, dan dokter yang berada dalam resep.

Pada kegiatan ini, pengkajian terhadap informasi pasien, obat, dan dokter untuk memastikan bahwa obat yang diresepkan tepat indikasi. Pengkajian farmasi meliputi bentuk dan kekuatan sediaan, dosis dan Jumlah obat, Stabilitas dan ketersediaan, aturan, cara dan tehnik penggunaan untuk menilai efektifitas obat bagi pasien dan kenyamanan pasien terhadap obat yang diterima sehingga apoteker dapat menilai kemampuan pasien untuk memenuhi terapi pengobatan. Pengkajian klinis meliputi ketepatan indikasi, efektifitas obat dari dosis dan waktu penggunaan obat sudah terpenuhi maka apoteker dapat menilai keamanan obat berdasarkan data adanya duplikasi pengobatan, alergi, interaksi dan efek samping obat, kontra indikasi, efek aditif(17).

Kegiatan selanjutnya adalah dispensing, dalam proses dispensing obat dijamin agar tetap memiliki ketepatan dosis, efektif dan aman. Pemantauan dan pelaporan efek samping obat dilakukan untuk menjamin keamanan obat. sedangkan konseling digunakan untuk mengatasi permasalahan kepatuhan pasien.

Berdasarkan penjelasan Peraturan Menteri Kesehatan No 73 Tahun 2016 tentang pelayanan

kefarmasian diapotek dapat digambarkan bahwa pemerintah telah menjamin pasien mendapatkan pelayanan kefarmasian yang memberikan manfaat tepat indikasi, efektif, aman dan dapat digunakan sesuai aturan penggunaan(14). Selain itu pemerintah juga menjamin bahwa yang melakukan pelayanan kefarmasian diapotek adalah apoteker sesuai dengan keahlian dan wewenangnya(11). Hal ini menunjukkan bahwa pelayanan kefarmasian diapotek sudah berasaskan asuhan kefarmasian dengan jaminan bahwa penyedia pelayanan kefarmasian adalah apoteker.

Efektif, aman dan kepatuhan menggunakan obat merupakan manfaat obat yang digunakan sebagai dasar Apoteker meminta kompensasi dari pelayanan yang diberikan kepada pasien(6). Sebuah profesionalitas praktek akan berlansung lama jika diberi suatu kompensasi. Hal ini juga disampaikan oleh Tamblyn, R dan Batitista(8) bahwa kompensasi dapat menjadi sebuah perangsang bagi praktisi Apoteker menjadi lebih baik dalam memberikan pelayanan kefarmasian. Bentuk kompensasi ini berupa biaya profesional yang diberikan kepada Apoteker(9).

Namun berdasarkan Undang-undang No. 24 tahun 2011, pasal 11 BPJS melakukan kesepakatan reimbursement dengan fasilitas kesehatan salah satunya Apotek bukan dengan apoteker. Sedangkan pemerintah sendiri telah menjamin bahwa pasien mendapatkan asuhan kefarmasian yang diberikan oleh Apoteker(1).

SIMPULAN

Pada pelayanan resep di apotek, pasien membutuhkan terapi pengobatan yang tepat indikasi, efektif, aman dan dapat digunakan sesuai aturan penggunaan

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapkan terimakasih saya ucapkan kepada RSUD dr. Soebandi kabupaten Jember terutama bagian diklat dan Instalasi Farmasi yang telah mengijinkan saya untuk melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Republik Indonesia. Undang-Undang Replublik Indonesia Nomor 24 Tahun 2011 tentang Badan Penyelenggara Jaminan Nasional Jakarta: Sekeretariat Negara; 2011.
2. Republik Indonesia. Peraturan Presiden Replublik Indonesia No.12 Tahun 2013 tentang Jaminan Kesehatan. Jakarta: Sekeretariat Negara; 2013.
3. Smith F. Community pharmacy in Ghana: Enhancing

- The Contribution to Primary Health Care. Health Policy and Planning. London: Oxford University Press.2004. 19(1): 234-41.
4. World Health Organization. The role of the pharmacist in the health care system. Geneva: World Health Organization;1988.
 5. World Health Organization. Good pharmacy practice: Guidelines In Community And Hospital Pharmacy Settings. Geneva: World Health Organization; 1996.
 6. Vobenberg R, Sica JM. Managing pharmacy benefit. United States of America: International Foundation;2006.p.102-100.
 7. Cipolle RJ, Strand LM, Morley, PC. Pharmaceutical care practice. 3rd ed. Unites States of America: The Mc Graw- Hill Companies; 1998. p. 73-120.
 8. Tamblyn R, Battista R. Changing clinical practice: which interventions work. Journal Of Continuing Education In The Health Professions. 1993. 13 (1): 273-88.
 9. Scoot AS. The prescription. Remington The Science And Practice. 21 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2005.p.1827.
 10. Kuo GM, Buckley TE, Fitzsimmons DS, Steinbauer JR. Collaborative Drug Therapy Management Services and Reimbursement in a Family Medicine Clinic. Am J Health Syst Pharm. 2004. 61 (1):343-354.
 11. Republik Indonesia. UndangUndang Replubik Indonesia No. 36 tahun 2009 tentang Kesehatan. Jakarta: Sekeretariat Negara;2009.
 12. Republik Indonesia. UndangUndang Replubik Indonesia No. 23 tahun 1992 tentang Kesehatan. Jakarta: Sekeretariat Negara;1992.
 13. Rappaport HM. A payment paradigm for Pharmaceutical Care.The Annals Of Pharmacotherapy 2002.36(1): 721-725.
 14. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan No 73 tahun 2016 tentang Standart Pelayanan Kefarmasian di Rumah Sakit. Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia;2016.
 15. Kenned EJ. Social and behaviour aspect of pharmacy. Pharmaceutical practice. London : Churchil Living Stone; 1998. p. 12- 35.
 16. Rover JP, Currie JD, Hary PH. Apractical guide to pharmaceutical care. United State: American Pharmacist Association; 1998.p. 17-19.
 17. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan No72 tahun 2016 tentang standar pelayanan kefarmasian di rumah sakit. Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2016.

Kadar Makronutrien dan Nilai Indeks Glikemik Tepung Umbi Suweg (*Amorphophallus campanulatus*) Dengan dan Tanpa Difermentasi

(Macronutrient Level and Glycemic Index Value of Fermented and Unfermented Suweg (*Amorphophallus campanulatus*) Tuber Flour)

DIAN RATIH LAKSMITAWATI*, UMI MARWATI, VERGIE INDRIANI

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta 12640, Indonesia

Diterima 23 Januari 2019, Disetujui 22 Maret 2019

Abstrak: Nilai indeks glikemik bahan makanan tergantung pada komposisi makronutrien. Fermentasi pada bahan makanan dapat merubah kadar makronutrien. Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh fermentasi bakteri asam laktat pada kadar makronutrien (protein, lemak, karbohidrat) dan indeks glikemik tepung umbi suweg (*Amorphophallus campanulatus*). Umbi suweg diiris tipis, difermentasi dengan 10% isolat bakteri asam laktat T1-2, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 4 hari. Hasil fermentasi dibuat tepung dan ditentukan indeks glikemik menggunakan mencit percobaan. Kadar karbohidrat, lemak dan protein ditentukan secara kimia. Hasil menunjukkan bahwa selama 4 hari fermentasi terjadi peningkatan viabilitas BAL dari hari ke-0 ($3,64 \times 10^8$ sel/mL) sampai hari ke-2 ($20,38 \times 10^8$ sel/mL) dan mengalami penurunan setelah hari ke-2. Jumlah total asam meningkat dari 0,2066% sampai 1,2599%, pH menurun dari 5,43 menjadi 4,37. Kadar protein tepung suweg terfermentasi:tanpa fermentasi 7,41% : 6,05%. Kadar lemak tepung suweg terfermentasi:tanpa fermentasi 0,46% : 0,38%. Kadar karbohidrat tepung suweg terfermentasi:tanpa fermentasi 81,7% : 82,15%. Nilai indeks glikemik tepung suweg terfermentasi:tanpa fermentasi 64,6 : 69,4. Berdasarkan uji statistik, fermentasi BAL 10% pada tepung suweg selama 4 hari menyebabkan perubahan yang tidak berbeda nyata pada kadar makronutrien (lemak, karbohidrat, protein) namun berbeda nyata pada nilai indeks glikemik ($P > 0,05$).

Kata kunci: *Amorphophallus campanulatus*, tepung umbi suweg, fermentasi, bakteri asam laktat, makronutrien, indeks glikemik.

Abstract: The glycemic index value of food is influenced by macronutrient composition. Fermentation can change macronutrient levels of foods. This study aims to analyze the effect of lactic acid bacteria fermentation on protein, fat, carbohydrate, and glycemic index of suweg (*Amorphophallus campanulatus*) tuber flour. Tuber flour were fermented with 10% lactic acid bacteria T1-2 isolated from previous studies, for 4 days. The fermented suweg flour was tested to determine the glycemic index using experimental mice. Carbohydrates, fats, and proteins are chemically determined. The results showed that 4 days fermentation process results in increasing of lactat acid bacteria viability from day 0 (3.64×10^8 cells/mL) until 20.38×10^8 cells/mL at day 2 and decreased after day 2. The total acid count increased from 0.2066% to 1.2599% as the pH decreased from 5.43 to 4.37. The determination of protein, fat, and carbohydrate contents of fermented suweg flour compare with non fermented was 7.41% : 6.05%, 0.46% : 0.38%, 81.7% : 82.15% respectively. The glycemic index value of fermented suweg flour : non fermented was 64.6 : 69.4. Based on statistical test, fermentation of the lactic acid bacteria on suweg tuber for four days had no effect on the glycemic index and carbohydrate, fat, and protein levels on the tubers ($P > 0.05$).

Keywords: *Amorphophallus campanulatus*, suweg tuber flour, fermentation, lactic acid bacteria, macronutrien, glycemic index.

* Penulis korespondensi, Hp. 08161315384
e-mail dian.ratih@univpancasila.ac.id

PENDAHULUAN

PREVALENSI penderita Diabetes Melitus (DM) diprediksi meningkat mencapai 21,3 juta orang pada tahun 2030⁽¹⁾. Peningkatan tersebut antara lain dicetuskan oleh ketidakseimbangan pola makan dan aktivitas. Jenis makanan tinggi karbohidrat disertai dengan pola makan yang tidak seimbang menyebabkan pankreas bekerja keras memproduksi insulin sehingga pada suatu saat akan timbul resistensi dimana pankreas tidak lagi merespon tingginya kadar glukosa darah. Untuk menghindari penyakit dan mencegah keparahan penyakit diabetes melitus maka diperlukan kontrol dan pembatasan jumlah karbohidrat dengan makanan berindeks glikemik rendah agar kadar glukosa dalam darah tidak tinggi.

Indeks glikemik (IG) adalah nilai yang menunjukkan kemampuan suatu makanan yang mengandung karbohidrat dalam meningkatkan kadar glukosa darah⁽²⁾. Makanan yang menaikkan kadar glukosa darah dengan cepat memiliki IG tinggi, sedangkan makanan yang menaikkan kadar gula darah dengan lambat memiliki IG rendah. Nilai indeks glikemik terdiri dari tiga kelas yaitu, indeks glikemik tinggi (>70), indeks glikemik sedang (55-70), indeks glikemik rendah (<55)⁽³⁾.

Berbagai usaha dilakukan untuk menjadikan bahan makanan berindeks glikemik rendah, antara lain dengan pengolahan bahan makanan, salah satu jenis pengolahan adalah fermentasi. Teknologi fermentasi merupakan teknologi yang menggunakan bakteri sebagai bioagen. Fermentasi terbukti dapat menurunkan IG pada beberapa makanan. Fermentasi dapat mengubah komposisi nutrisi misalnya menurunkan jumlah karbohidrat, sehingga berakibat perubahan pada indeks glikemik. Dari beberapa penelitian membuktikan pengaruh fermentasi terhadap IG yaitu pada fermentasi roti *sourdough* yang menggunakan ragi dan bakteri asam laktat dapat menurunkan pH yang menghambat daya cerna pati sebagai hasilnya indeks glikemik menurun⁽⁴⁾ dan pada fermentasi kacang hijau menggunakan *Rhizopus* sp. dapat meningkatkan efek antihiperlikemik dan antioksidan pada tikus diabetes yang dikontribusi oleh peningkatan GABA dan asam amino bebas⁽⁵⁾.

Salah satu fermentasi yang sering dilakukan adalah fermentasi susu menggunakan bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp.⁽⁶⁾. Fermentasi dengan *Lactobacillus* sp. dapat mengubah glukosa menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk⁽⁷⁾. Fermentasi asam laktat menyebabkan kadar glukosa berkurang serta dapat meningkatkan kualitas nutrisi, organoleptik serta dapat memberikan efek sebagai pengawet dan detoksifikasi pada makanan⁽⁸⁾.

Suweg (*Amorphophallus campanulatus*) adalah tanaman liar yang bisa terdapat di pekarangan, di tepi hutan, dan dibawah pohon rindang ataupun lahan yang tidak dikelola secara intensif. Suweg dapat hidup menahun dan tahan terhadap penyakit tanpa budidaya memadai⁽⁹⁾. Suweg merupakan salah satu tanaman penghasil umbi. Umbi suweg sejak zaman dahulu telah dikonsumsi oleh masyarakat di beberapa daerah di Indonesia. Namun umbi suweg masih belum dihargai sebanding dengan umbi-umbian yang lain serta pangan yang berasal dari padi, jagung, dan kedelai. Padahal umbi suweg mempunyai prospek untuk dijadikan sumber pangan karbohidrat yang dapat dikembangkan di Indonesia dengan mengolahnya menjadi tepung suweg⁽⁹⁾. Umbi suweg mengandung karbohidrat yang relatif tinggi yaitu 80%-85% dan memiliki komponen protein, lemak, vitamin, dan mineral⁽¹⁰⁾. Umbi suweg bisa menjadi salah satu sumber untuk pangan yang dapat difermentasi sehingga bisa mendapat nilai lebih dari sekedar umbi biasa.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan perubahan nilai indeks glikemik dan kadar makronutrien umbi suweg setelah perlakuan fermentasi menggunakan bakteri asam laktat T1-2.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sampel adalah umbi suweg (*Amorphophallus campanulatus*) dalam bentuk potongan-potongan kering (*chip*) yang diperoleh dari industri rumahan di Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah. Sebagai bakteri fermentasi adalah bakteri T2-1 hasil isolasi dari pangan lokal terfermentasi penelitian terdahulu yang. Medium inokulum adalah MRSB (*de Mann Rogosa Sharp Broth*).

METODE. Peremajaan Isolat Bakteri T1-2. Isolat bakteri yang tersedia diremajakan secara aseptis. Isolat digoreskan pada media agar miring MRSB (*de Mann Rogosa Sharp Agar*), kemudian kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Pembuatan Stok Kultur Bakteri. Isolat yang telah diremajakan, diinokulasikan sebanyak 1 ose ke dalam media cair MRSB, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Kultur stok tersebut disimpan pada suhu 5 °C, sehingga kultur yang tumbuh dapat dijadikan koleksi dan digunakan pada tahap selanjutnya.

Penyiapan Stok Inokulum. Stok inokulum dibuat dengan mencampurkan kultur isolat bakteri asam laktat T1-2 sebanyak 10% dengan media cair MRSB, selanjutnya diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 24-48 jam. Untuk keperluan fermentasi inokulum diatur agar berjumlah 2x10⁸ sel/mL.

Fermentasi Umbi Suweg. Kulit umbi suweg dikupas dan dicuci dengan air mengalir. Setelah itu umbi diiris untuk memudahkan fermentasi. Fermentasi dilakukan dengan cara memasukan 1 kg irisan umbi suweg. Wadah yang berisi aquadest steril yang telah diinokulasikan dengan stok inokulum BAL sebanyak 10^8 sel/mL, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 5 hari. Setelah itu ampas umbi diambil dan dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 16 jam. Setelah kering irisan umbi digiling menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan mesh 100-120.

Uji Produksi Total Asam dari Isolat BAL. Isolasi bakteri asam laktat dari fermentasi ditumbuhkan dalam media MRSB pada suhu 38°C , sampel diambil 10 mL setiap 24 jam selama 5 hari. Kemudian disentrifuga selama 10 menit dengan 3000 rpm. Sebanyak 2 mL filtrat diambil untuk dititrasi dengan NaOH 0,01N dengan indikator fenolftalin 1%. Persentase total asam dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ total asam} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{fp} \times \text{BM} \times 100\%}{\text{mL sampel}}$$

Analisis Viabilitas Isolat Bakteri Asam Laktat T1-2. Selama fermentasi, dilakukan pengamatan jumlah mikroba untuk mengetahui populasi bakteri asam laktat. Sebanyak 1-3 mL cairan fermentasi dari umbi suweg diambil secara periodik tiap 0-5 hari. Selanjutnya dihitung menggunakan hemositometer untuk mengetahui jumlah sel isolat. Serta dilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter.

Analisis Kadar Makronutrien Tepung Umbi Suweg⁽¹⁾. **Penetapan Kadar Protein.** Ditimbang 0,1-0,5 gram tepung umbi suweg, dimasukan kedalam labu Kjedhal kemudian ditambahkan 2 g campuran selen dan 25 mL H_2SO_4 pekat. Bahan dipanaskan di atas pemanas listrik atau api pembakar sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan (sekitar 2 jam). Biarkan dingin, kemudian diencerkan dan dimasukan ke dalam labu ukur 100 mL, ditepatkan sampai tanda garis. Larutan dipipet 5 mL dan dimasukan ke dalam alat penyuling, ditambahkan 5 mL NaOH 30% dan beberapa tetes indikator PP. Dilakukan penyulingan selama lebih kurang 10 menit, sebagai penampung gunakan 10 mL asam borat 2% yang telah dicampur indikator. Bilas ujung pendingin dengan air suling. Titrasi dengan larutan HCl 0,01 N. Dilakukan penetapan blangko.

Penetapan Kadar Lemak. Tepung dihidrolisis dengan asam. Tepung yang sudah disiapkan di dalam labu mojonier, ditambahkan 10 mL HCl, dikocok dengan kuat dan dimasukan ke dalam penangas air hingga semua partikelnya terlarut. Labu didinginkan

pada suhu kamar, lebih kurang 30 menit, ditambah 10 mL etanol dan diaduk dengan sempurna. Dietil eter ditambahkan sebanyak 25 mL, ditutup dan dikocok selama 30-60 detik. Kemudian didinginkan, tutup labu dibuka dan dicuci leher labu dengan 25 mL petroleum eter $40-60^\circ\text{C}$, disatukan dalam labu. Ditutup kembali dan dikocok dengan sempurna selama 30-60 detik. Labu sari dibiarkan atau dipusingkan hingga lapisan eternya jernih. Tutup labu dibuka, dituangkan lapisan eter ke dalam labu lemak yang diketahui bobotnya. Ulangi kembali ekstraksi sebanyak 2 kali (tanpa etanol) boleh digunakan campuran dietil eter: petroleum eter (1:1). Diuapkan dengan hati-hati campuran eter yang ada dalam labu lemak diatas penangas air dan dimasukan ke dalam oven 100°C paling sedikit 1 jam. Dinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Ulangi pengeringan dalam oven sampai diperoleh bobot tetap.

Penetapan Kadar Karbohidrat Total. Penentuan karbohidrat paling sederhana adalah dengan cara perhitungan kasar (*proximate analysis*) atau yang dikenal *Carbohydrate by Difference*. Pengertian *proximate analysis* adalah suatu analisis dimana kandungan karbohidrat termasuk serat kasar diketahui bukan melalui analisis tetapi perhitungan :

$$\% \text{ karbohidrat} = 100\% - \% (\text{protein} + \text{lemak} + \text{abu} + \text{air})$$

Analisis Indeks Glikemik. Sebanyak 24 ekor mencit yang akan digunakan dalam penelitian, diaklimatisasi terlebih dahulu selama seminggu untuk penyesuaian lingkungan, kontrol kesehatan dan berat badan. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Kelompok I (normal) selama perlakuan hanya diberikan kontrol Na CMC 0,1% peroral, kelompok II (standar) diberikan larutan glukosa sebanyak 1,5g/ kgBB, kelompok III diberikan suspensi tepung umbi suweg terfermentasi sebanyak 1,8g/kgBB, kelompok IV diberikan suspensi tepungumbi suweg tanpa fermentasi sebanyak 1,8 g/kgBB. Bahan-bahan tersebut diberikan peroral 1 kali. Sebelum pemberian bahan-bahan tersebut semua mencit dikondisikan puasa 1 malam atau 8-10 jam. Pengambilan darah vena ekor dilakukan pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 90, dan 120 setelah pemberian bahan. Kadar glukosa darah diukur menggunakan alat Glucotest. Indeks glikemik (IG) dihitung dengan membandingkan nilai *Area Under the Curve* (AUC) glukosa darah mencit setelah pemberian sampel dengan nilai AUC glukosa standar, kemudian dikali dengan angka 100. Perhitungan AUC mengikuti rumus trapesium yang terbentuk di daerah bawah kurva antara waktu (menit) dengan kadar glukosa (mg/dL).

$$AUC_{t_1}^{t_2} = \frac{(kadar\ t_2 + kadar\ t_1) \times (t_2 - t_1)}{2}$$

$$AUC\ TOTAL = AUC_{t_1}^{t_2} + AUC_{t_2}^{t_n}$$

Indeks glikemik dihitung dengan:

$$IG = \frac{AUC\ uji}{AUC\ standar\ glukosa} \times 100$$

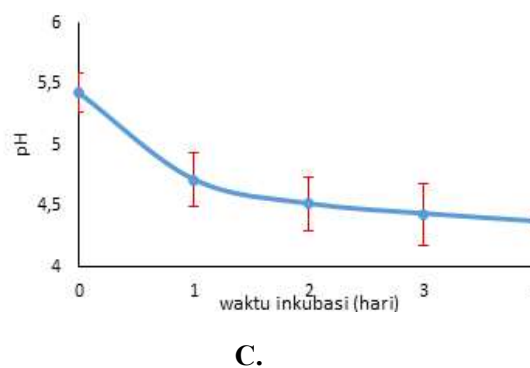
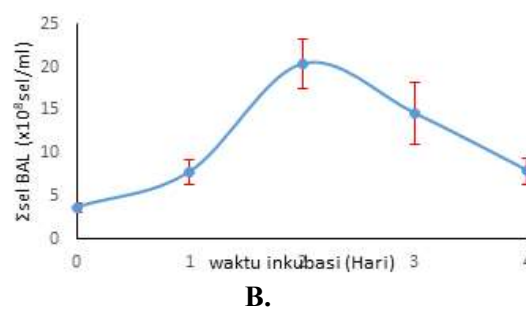
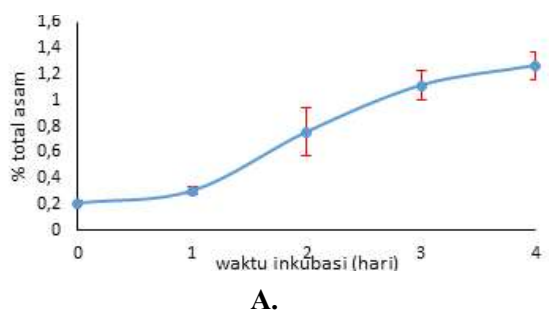
Keterangan: 100 = indeks glikemik dari glukosa

HASIL DAN PEMBAHASAN

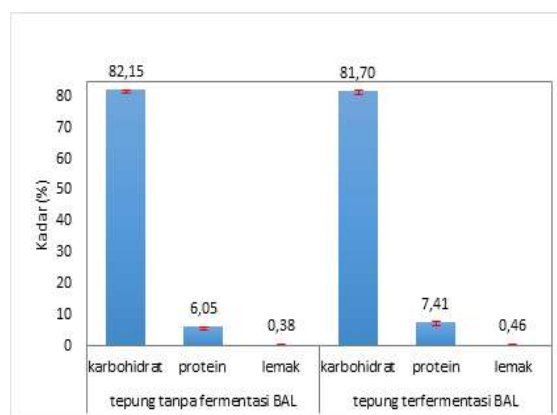
Proses Fermentasi. Selama proses fermentasi BAL T1-2 pada umbi suweg dilakukan perhitungan populasi bakteri asam laktat, pengujian jumlah total asam dan pengujian pH dengan maksud untuk memantau proses dan kualitas fermentasi. Pada Gambar 1 A menunjukkan fase eksponensial BAL terjadi dihari ke-0 sampai hari ke-2. Viabilitas maksimal BAL terjadi pada hari ke-2 kemudian terjadi penurunan pada hari selanjutnya. Selain penentuan viabilitas BAL, berjalannya proses fermentasi dapat juga dipantau dari grafik total asam dan pH, seperti terlihat pada Gambar 1 B dan C. Total asam mengalami peningkatan pada hari ke-2, sehingga terjadi penurunan pH pada hari ke-2, hal ini disebabkan pada hari ke-2 jumlah populasi BAL paling maksimal. BAL tersebut melakukan penguraian karbohidrat (glukosa) lewat jalur Embden Meyerhoff Parnas (EMP) menjadi laktat⁽¹²⁾. Monosakarida akan dimetabolisme oleh BAL menjadi glukosa-6-fosfat atau fruktosa-6-fosfat dan kemudian terjadi metabolisme melalui jalur EMP yang pada akhirnya dihasilkan asam laktat⁽¹²⁾. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL T1-2 akan tersekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi sehingga pH menurun dan menimbulkan rasa asam⁽¹³⁾.

Kandungan Makronutrien. Gambar 2. memperlihatkan kadar makronutrien (karbohidrat, protein lemak) pada tepung umbi suweg. Fermentasi BAL menyebabkan perubahan kadar makronutrien yang tidak signifikan secara statistika. Kadar karbohidrat mengalami penurunan dari 82,15% menjadi 81,70%. Namun penurunan ini tidak bermakna secara uji statistik *Mann-Whitney* ($P > 0,05$), sedangkan kadar protein dan lemak meningkat tidak signifikan ($P > 0,05$). Kadar lemak meningkat dari 0,38% menjadi 0,46% dan kadar protein meningkat dari 6,05% menjadi 7,41%.

Fermentasi dapat menyebabkan perubahan kandungan dan kadar komponen makronutrien⁽⁸⁾. Pada penelitian kadar karbohidrat, lemak, dan protein mengalami perubahan, walaupun tidak signifikan. Penurunan kadar karbohidrat setelah fermentasi



Gambar 1. Kondisi selama fermentasi (A) populasi isolat BAL T1-2. (n=4), (B) Total asam (C) pH medium.



Gambar 2. Kandungan makronutrien (%).

BAL mempunyai prospek menguntungkan untuk pengendalian kadar glukosa darah pada penderita diabetes. Penelitian lain oleh Poutanen Kaisa, et al 2009 dan Krischinda Singer, et al 2013, juga menunjukkan perubahan kandungan karbohidrat pada *sourdough* (adonan roti) yang terbuat dari tepung terigu atau tepung gandum yang difermentasi menggunakan bakteri asam laktat dan ragi menurun^(14,15).

Analisis Indeks Glikemik Tepung Umbi Suweg.

Tabel 2. Memperllihatkan hasil pengukuran indeks glikemik (IG) tepung umbi suweg yang difermentasi maupun tidak difermentasi. Indeks glikemik diperoleh dari hasil perhitungan membandingkan rata-rata luas daerah dibawah kurva (DDK_{0-120'}) kadar glukosa darah 6 mencit setelah diberi bahan uji dengan rata-rata DDK_{0-120'} kadar glukosa darah 6 mencit setelah diberi beban glukosa pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 90, dan 120. Mencit yang diberi pembebanan glukosa standar dosis 1,5g/kgBB memiliki rerata

luas DDK_{0-120'} sebesar 13830,0 mg/dL/jam. Karena glukosa tersebut standar maka indeks glikemiknya dihitung 100.

Pada mencit yang diberi tepung suweg terfermentasi BAL dan tanpa fermentasi BAL dosis 1,8 g/kgBB memiliki rerata luas DDK_{0-120'} sebesar 8925,0 mg/dL/jam dan 7780,3 mg/dL/jam. Nilai indeks glikemik tepung suweg terfermentasi lebih rendah (64,6) dibanding dengan tepung suweg tanpa fermentasi (69,4), meskipun keduanya masuk kedalam kategori indeks glikemik sedang. Berdasarkan uji statistik anova untuk DDK_{0-120'} antara kelompok glukosa standar dengan kedua kelompok tepung suweg terfermentasi BAL dan tanpa fermentasi BAL menunjukkan perbedaan bermakna (P<0,05). Sedangkan berdasarkan uji lanjutan dengan *posthoc test* LSD DDK_{0-120'} kelompok tepung suweg terfermentasi BAL dan tanpa fermentasi BAL menunjukkan tidak beda bermakna (P>0,05).

Tabel 2. Indeks glikemik tepung umbi suweg.

Bahan	Luas daerah dibawah kurva (mg/dL/jam)	Indeks glikemik	Kategori*
Standar Glukosa	13830,0±2153,4	100	Tinggi
Tepung Suweg Terfermentasi BAL	8925,0±1942,6	64,6	Sedang
Tepung Suweg Tanpa Fermentasi BAL	7780,3±3677,3	69,4	Sedang

Keterangan : *kategori : IG rendah (>55), IG sedang (55-70), IG tinggi (>70)

Selain dilihat dari kandungan makronutrien, suatu bahan makanan yang baik untuk penderita diabetes adalah makanan yang mempunyai indeks glikemik rendah. Indeks glikemik merupakan suatu cara untuk memberikan gambaran tentang hubungan antara karbohidrat dalam makanan dengan respon glukosa darah⁽¹⁶⁾. Indeks glikemik yang dimiliki tepung umbi suweg terfermentasi BAL lebih rendah dibandingkan dengan tepung umbi suweg tanpa fermentasi BAL meskipun, keduanya masuk ke dalam kategori indeks glikemik sedang. Rendahnya nilai indeks glikemik tepung umbi suweg terfermentasi BAL dipengaruhi oleh kadar karbohidrat yang menurun, kadar protein dan lemak tepung umbi suweg terfermentasi BAL yang meningkat dapat memperlambat proses pengosongan lambung dan memperlambat proses pencernaan karbohidrat⁽¹⁷⁾. Selain itu, asam yang dihasilkan dari fermentasi oleh bakteri asam laktat dapat menghambat daya cerna pati sehingga pada akhirnya indeks glikemik pada tepung umbi suweg terfermentasi BAL menurun^(14,15).

Beberapa bahan pangan yang mempunyai indeks glikemik rendah antara lain, menurut penelitian Betty Sri Laksmi, et al 2012 yang meneliti tepung pisang

tanduk termodifikasi oleh campuran BAL *Lactobacillus plantarum* dan *L. fermentum* berhasil menurunkan daya cerna pati sebesar 56,45%, meningkatkan kadar serat pangan (15,91%), dan menurunkan indeks glikemik sebesar 61,40 dibandingkan dengan tepung pisang kontrol⁽¹⁸⁾.

Penelitian lain oleh Ahmad Nafi, et al 2014 yang meneliti tepung biji koro yang difermentasi dengan BAL *L. plantarum* menghasilkan kandungan pati yang rendah (42,72%), kadar amilosa tinggi (30,09%) dan rendahnya kadar amilopektin (12,63%) yang membuat indeks glikemik tepung biji koro terfermentasi menjadi rendah (41,69%)⁽¹⁹⁾. Dan fermentasi tempe yang menggunakan jamur *Rhizopus oryzae* dapat menurunkan kadar gula darah tikus yang induksi alloxan, dari 209,8 mg/dL menjadi 94,5 mg/dL. Hal tersebut dikarenakan protein kedelai pada tempe mampu bersifat hipoglikemik, memperbaiki resistensi insulin, dan meningkatkan sensitivitas insulin. Serta serat yang terdapat di tempe dapat memperlambat pengosongan lambung dan absorpsi glukosa yang nantinya akan membuat indeks glikemik menjadi rendah⁽²⁰⁾.

SIMPULAN

Fermentasi tepung umbi suweg (*Amorphophallus campanulatus*) menggunakan 10% bakteri asam laktat T1-2 selama 4 hari tidak menyebabkan perubahan yang bermakna pada kadar makronutrien karbohidrat, protein dan lemak dibandingkan dengan tepung yang tidak difermentasi. Namun demikian fermentasi tepung umbi suweg menyebabkan penurunan indeks glikemik yang signifikan secara statistik yaitu dari 69,4 menjadi 64,6 setelah difermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization. Global Report on Diabetes. Vol. 978. WHO Press; 2016. 88 p.
- Uwi IG, Dan G, Yang T, Pada D. Glycaemic Index Of Uwi, Gadung, And Talas Which Were Given On Rat. Trad Med J. 2013;18(September):127-31.
- Arif A Bin, Budiyanto A. Glicemic Index of Foods and Its Affecting Factors. J Litbang Pert. 2013;32(2).
- Hui YH, Evranuz Ö. Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology. 2nd ed. London: CRC Press; 2012. 485-486 p.
- Yeap SK, Mohd Ali N, Mohd Yusof H, Alitheen NB, Beh BK, Ho WY, et al. Antihyperglycemic Effects of Fermented and Nonfermented Mung Bean Extracts on Alloxan-Induced-Diabetic Mice. J Biomed Biotechnol. 2012;2012:1-7.
- Suprihatin. Teknologi Fermentasi. 1st ed. UNESA Press; 2010. 3-5 p.
- Indah Lestari A. Profil Bakteri Asam Laktat Dari Pangan Fermentasi Lokal Yang Berpotensi Sebagai Bioagen Pangan Fungsional. Universitas Pancasila; 2013.
- Chelule PK, Mokoena MP, Gqaleni N. Advantages of traditional lactic acid bacteria fermentation of food in Africa. Technol Educ Top Appl Microbiol Microb Biotechnol. 2010;1160-7.
- Purwantoro R, Pengajar S, Unma FTP. Umbi Suweg Sebagai Pangan Fungsional Untuk Mendukung Diversifikasi Dan Ketahanan Pangan. 1997;
- Pitojo S. Suweg: Bahan Pangan Alternatif, Rendah Kalori-Dilengkapi dengan resep-resep masakan. 1st ed. Yogyakarta: Kanisius; 2007. 7-16 p.
- Badan Standarisasi Nasional. Cara Uji Makanan dan Minuman SNI 01-2891-1992. Departemen Perindustrian RI; 1992. 10-23 p.
- MLP, Zubaidah E. Evaluasi Pertumbuhan Lactobacillus casei Dalam Medium Susu Skim Yang Disubstitusi Tepung Beras Merah. J Pangan dan Argoindustri. 2014;2(4):285-96.
- Tien R Muchtadi FA. Teknologi Proses Pengolahan Pangan. Bandung: AlfaBeta; 2010.
- Poutanen K, Flander L, Katina K. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. J Food Microbiol. 2009;26(7):693-9.
- Aplevicz KS, Ogliari PJ, Sebastião E, Anna S. Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread. Brazilian J Pharm Sci. 2013;49:237.
- Dini RZ. Pengaruh substitusi tepung ampas kelapa terhadap nilai indeks glikemik, beban glikemik, dan tingkat kesukaan roti. Universitas Diponegoro Fakultas Kedokteran; 2013.
- Donna K. The Glycemic Index : Benefits & Use in Diabetes Management. winter. 2005;24:2.
- Sri B, Jenie L, Putra RP, Kusnandar F. Pemanasan Otoklaf Dalam Meningkatkan Kadar Pati Resisten Dan Sifat Fungsional Tepung Pisang Tanduk (*Musa paradisiaca formatypica*). 2012;9(1):18-26.
- Nafi A. Produksi Tepung Fungsional Termodifikasi Dari Koro- Koroan Sebagai Bahan Pangan Alternatif. 2014.
- Bintanah S, Kusuma HS. Pengaruh Pemberian Bekatul dan Tepung Tempe Terhadap Profil Gula Darah Pada Tikus Yang Diberi Alloxan. 2010;01(02):4-7.

Perbandingan Profil Lipid dan Penentuan Indeks Aterogenik pada Tikus Putih Jantan yang Diberi *Crude Fucoidan* dari Rumput Laut Coklat (*Sargassum Polycystum*) yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak

(Comparison of Lipid Profile and Determination of Atherogenic Index in White Rats were Given Crude Fucoidan from Brown Seaweed (*Sargassum Polycystum*) that Induced High-Fat Diet)

JULIANA A PURUKAN^{1*}, KUSMARDI², BAMBANG PONCO PRIOSOERYANTO³, DIAN RATIH LAKSMITAWATI¹, SYAMSUDIN ABDILLAH¹

^{1*}Fakultas Farmasi Universitas Pancasila

²Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Diterima 26 November 2018, Disetujui 22 Maret 2019

Abstrak: Penyakit jantung koroner adalah penyebab kematian nomor satu di dunia. Salah satu faktor risiko penyakit jantung koroner adalah aterosklerosis. Penyebab utamanya adalah tingginya konsumsi lemak jenuh dan kolesterol mengakibatkan peningkatan kadar kolesterol dan LDL. Rumput laut coklat (*Sargassum polycystum*) merupakan salah satu tanaman yang menghasilkan aktivitas farmakologik yaitu sebagai anti aterosklerotik dengan kandungan kimia yang berpotensi adalah fucoidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas crude fucoidan dalam menurunkan kadar kolesterol, LDL, TG, menaikkan kadar HDL dan Indeks Aterogenik. Tahapan optimasi digunakan 5 ekor hewan uji tikus untuk melihat pengaruh komposisi diet tinggi lemak yang diberikan terhadap profil lipid. Sedangkan pada tahap pengujian digunakan 30 ekor hewan uji yang dibagi menjadi 6 kelompok untuk melihat pengaruh diet tinggi lemak dan crude fucoidan yang diberikan terhadap profil lipid. Pemeriksaan profil lipid dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada hari ke-0, ke-14 dan hari ke-36 setelah itu dihitung indeks aterogeniknya. Pada hari ke-36 hewan uji di anestesi dan dinekropsi untuk selanjutnya dilakukan pengambilan darah melalui organ jantung.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa crude fucoidan dosis 200 mg dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL, TG, menaikkan kadar HDL dan memiliki penurunan indeks aterogenik serum tikus secara bermakna dibandingkan dengan dosis 100 mg dan 50 mg, tetapi tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif atorvastatin dosis 10 mg.

Kata kunci: *Crude fucoidan*, atorvastatin, diet tinggi lemak, kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), *High Density Lipoprotein* (HDL), Trigliserida, indeks aterogenik.

Abstract: Coronary heart disease is the number one cause of death in the world. One risk factor for coronary heart disease is atherosclerosis. The main cause is the high consumption of saturated fats and cholesterol resulting in increased cholesterol and LDL levels. Brown seaweed (*Sargassum polycystum*) is one of the plants that produces pharmacological activity which is as anti-atherosclerotic with the potential chemical content is fucoidan. The aim of this research is to know the effectiveness of crude fucoidan in decreasing total cholesterol, LDL, TG, increasing HDL levels and atherogenic index. In the optimization phase, 5 rat test animals were used to see the effect of the composition of a high-fat diet given on lipid profiles. While in the testing phase 30 test animals were divided into 6 groups to see the effect of a high-fat and crude fucoidan diet given to lipid profiles. Examination of lipid profiles was carried out three times, namely on the 0th, 14th and 36th days, after that the atherogenic index is calculated. On the 36th day the test, rats were anesthetized and necropsy for subsequent blood collection through the heart organ. The results showed that 200 mg crude fucoidan dose could significantly decreasing total cholesterol, LDL, TG, increased HDL levels and significantly decreased the atherogenic index of rat serum compared to the dosages of 100 mg and 50 mg, but did not differ significantly from the positive control at 10 mg atorvastatin.

Keywords: Crude fucoidan, atorvastatin, high-fat diet, total cholesterol, Low Density Lipoprotein (LDL), High Density Lipoprotein (HDL), Triglycerides, atherogenic index.

*Penulis korespondensi, Hp. 081280825215
email: purukanjuliana@gmail.com

PENDAHULUAN

PERKEMBANGAN zaman dan arus globalisasi telah membawa banyak perubahan terhadap gaya hidup manusia dan pola makan telah memicu timbulnya berbagai gangguan kesehatan seperti tingginya kadar kolesterol, *diabetes mellitus*, tingginya kadar asam urat dan penyakit kardiovaskular salah satunya penyakit jantung koroner⁽¹⁾. Penyakit jantung koroner adalah penyebab kematian nomor satu di dunia. Pada tahun 2017, Badan Kesehatan Dunia (WHO) mencatat ada sekitar 45,1% penduduk dunia meninggal akibat penyakit jantung koroner⁽²⁾. Sedangkan, berdasarkan diagnosis dokter prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia pada tahun 2017 sebesar 12,7%. Hasil riset kesehatan dasar ini menunjukkan penyakit jantung koroner berada pada posisi ketujuh tertinggi penyakit tidak menular di Indonesia⁽³⁾. Salah satu faktor risiko penyakit jantung koroner (PJK) adalah aterosklerosis, yaitu suatu keadaan pada arteri besar dan kecil yang ditandai oleh endapan lemak, trombosit, makrofag dan leukosit di seluruh lapisan tunika intima dan akhirnya ke tunika media⁽⁴⁾. Penyebab utama aterosklerosis adalah lipoprotein dan hiperlipidemia dimana tingginya konsumsi lemak jenuh dan kolesterol menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dan lipoprotein densitas rendah (*Low Density Lipoprotein* = LDL)⁽¹⁾.

Kadar LDL yang tinggi menyebabkan meningkatnya jumlah partikel LDL yang masuk ke sub intima pembuluh darah di daerah predileksi. LDL kemudian ditangkap makrofag melalui pengikatan pada reseptor LDL, dan karena kapasitas makrofag untuk menangkap LDL terbatas, maka jumlah partikel LDL sub intima meningkat. Akibatnya, terdapat sejumlah sisa partikel LDL yang akan dioksidasi oleh makrofag dan otot polos, menghasilkan ion *mo*-LDL (*midly oxidized* LDL) atau LDL-oks. LDL-oks kemudian ditangkap oleh makrofag melalui reseptor ScR (*scavenger-receptor*) secara terus menerus dan berubah menjadi sel busa. LDL-oks bersifat sitotoksik sehingga menimbulkan kematian sel busa dan terjadi penumpukan lemak (kolesterol) ekstrasel. Kadar LDL yang tinggi dan penebalan dinding aorta abdominalis merupakan penyebab primer aterosklerosis^(5,6). Berbagai upaya dilakukan untuk mengobati aterosklerosis ini salah satunya dengan statin, salah satu obat penurun lipid paling efektif untuk menurunkan kolesterol LDL dan terbukti aman atau tanpa efek samping yang berarti. Selain berfungsi untuk menurunkan kolesterol LDL, statin juga mempunyai efek meningkatkan *High Density Lipoprotein* (HDL) dan menurunkan trigliserida

(TG). Cara kerja statin adalah dengan menghambat kerja enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzim A-reductase inhibitor (HMG-CoA reduktase). Efeknya dalam regulasi *Cholesteryl Ester Transfer Protein* (CETP) menyebabkan penurunan konsentrasi kolesterol LDL dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL)⁽⁷⁾.

Atorvastatin sebagai salah satu obat golongan statin memiliki efek *pleiotropic* yang lebih baik dibandingkan golongan statin lain seperti adanya efek menstabilkan plaque, penurunan kasus terjadinya serangan iskemik stroke berulang dan menghambat pembentukan aterosklerosis⁽⁸⁾. Namun, adanya penggunaan statin dapat menyebabkan sakit kepala, efek pada saluran cerna meliputi abdomen, flatulens, konstipasi, diare, mual dan muntah serta ruam kulit dan reaksi hipersensitivitas yang telah dilaporkan meskipun jarang terjadi⁽⁹⁾.

Efek samping yang membahayakan menjadi pendorong untuk mencari alternatif yang lebih baik dengan mengembangkan penggunaan obat tradisional untuk menangani berbagai macam penyakit. Salah satu jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat yaitu rumput laut. Rumput laut merupakan kelompok tumbuhan yang berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni apabila ditinjau secara biologi. Rumput laut mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral, dan juga senyawa bioaktif⁽¹⁰⁾. Alga coklat *Sargassum sp.* sangat melimpah serta tersebar luas di perairan Indonesia. *Sargassum sp.* mengandung bahan alginat dan iodin yang digunakan pada industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil. Selain itu, *Sargassum sp.* mengandung senyawa-senyawa aktif steroida, alkaloida, fenol, dan triterpenoid yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, dan anti jamur⁽¹¹⁾. Di Indonesia terdapat 12 jenis *Sargassum* yang sudah diteliti yaitu *S. duplicatum*, *S. hystrix*, *S. echinocarpum*, *S. binderi* Sonder, *S. gracilinum*, *S. crassifolium*, *S. obtusifolium*, *S. microphyllum*, *S. vulgare*, *S. polyceratium*, *S. aquofilum* dan *S. polycystum*⁽¹²⁾.

S. polycystum merupakan salah satu rumput laut yang banyak mengandung bahan kimia serta berpotensi untuk dimanfaatkan dan dikembangkan. Kandungan kimia dari *S. polycystum* diantaranya yaitu protein, vitamin C, tanin, iodin, fenol, alginat dan *fucoidan* yang dapat digunakan sebagai bahan pangan, obat-obatan, kosmetik dan tekstil⁽¹¹⁾. Pada penelitian awal ekstrak rumput laut coklat (*S. polycystum*) dibuat sediaan nanopartikel dan di uji efek anti platelet secara *in vivo* dan diketahui bahwa sediaan ekstrak rumput laut coklat (*S. polycystum*) dapat memperpanjang waktu pendarahan dan waktu koagulasi pada tikus⁽¹³⁾.

Ekstrak kasar fucoidan pada alga coklat *S. polycystum* juga memiliki aktivitas antikanker terhadap viabilitas sel HeLa⁽¹⁴⁾.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian tentang perbandingan profil lipid pada tikus putih yang diberi *crude fucoidan* dari ekstrak rumput laut coklat *S. polycystum* dan statin yang di induksi diet tinggi lemak. Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley (SD) sebagai model hewan uji yang diberi diet tinggi lemak selama 35 hari. Pemilihan hewan uji menggunakan tikus putih jantan, karena pada tikus betina memproduksi hormon estrogen yang dapat mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol sehingga akan mempengaruhi profil lipid⁽¹⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. *Crude fucoidan* dari rumput laut coklat (*Sargassum polycystum*), pakan diet tinggi lemak dan pakan diet normal, Na-CMC 0.1%, Atorvastatin 10 mg, *ketamine xylazine*, NaCl, aquadest, alkohol.

ALAT. Alat Pemeliharaan Hewan Uji. Kandang hewan, wadah untuk pakan, wadah air minum.

Alat Pemeriksaan Profil Lipid. Tabung hematokrit, pipet mikro (Dragon SurePette), *pipette tip* (Citotest), centrifuge (TD4A-2), tabung *eppendorf*, *vaculab* (OneMed), *respons*[®] 901.

Alat Bedah Tikus. Papan wax, jarum, pinset, pinset chirurgis, gunting, scalpel, penyemprot alkohol. Lain-lain: timbangan hewan uji, gelas beker, erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, sonde lambung tikus.

Hewan Uji. Hewan uji yang akan digunakan dalam tahapan optimasi pada penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) putih galur Sprague Dawley (SD) (5 ekor tikus jantan) umur 2 sampai 2.5 bulan dengan bobot 100-150 g.

METODE PENELITIAN. Persiapan Hewan uji Tikus yang diikutsertakan dalam percobaan adalah tikus yang sehat dengan ciri-ciri mata merah jernih, bulu tidak berdiri, dan aktif. Tikus ditimbang beratnya secara berkala untuk mengontrol berat badan. Untuk membedakan masing-masing kelompok perlakuan, dilakukan penandaan tikus menggunakan larutan asam pikrat yang dioleskan pada bagian tubuh tikus.

Induksi Diet Tinggi Lemak. Tahap Orientasi. Sebanyak 5 ekor tikus putih jantan yang sebelumnya telah diaklimatisasi selama 1 minggu, dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu 1 ekor sebagai kontrol normal dan 4 ekor lainnya sebagai kontrol negatif (pemberian pakan diet tinggi lemak). Lima ekor tikus dilakukan pemeriksaan profil lipid (kolesterol total, LDL, HDL

dan TG) pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36. Pada hari ke-36, ke lima ekor tikus tersebut di anestesi dengan *ketamine xylazine* dan dinekropsi untuk diambil darah melalui jantung.

Tahap Pengujian. Sebanyak 30 ekor tikus putih jantan yang sebelumnya telah diaklimatisasi selama 1 minggu, dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu:

- Kelompok I : kontrol normal, diberi pakan diet normal.
- Kelompok II : kontrol negatif, diberi pakan diet tinggi lemak.
- Kelompok III : kontrol positif, diberi pakan diet tinggi lemak dan atorvastatin 10 mg/kg BB dalam larutan Na-CMC 0,1%.
- Kelompok IV : diberi pakan diet tinggi lemak dan *crude fucoidan* dosis 50 mg/kg BB dalam larutan Na-CMC 0,1%.
- Kelompok V : diberi pakan diet tinggi lemak dan *crude fucoidan* dosis 100 mg/kg BB dalam larutan Na-CMC 0,1%.
- Kelompok VI : diberi pakan diet tinggi lemak dan *crude fucoidan* dosis 200 mg/kg BB dalam larutan Na-CMC 0,1%.

Pengambilan darah pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36. Pada hari ke-0 dan ke-14 melalui sinus orbitalis. Pada hari ke-36 tikus tersebut di anestesi dengan *ketamine xylazine* 0,2 mL IP dan dinekropsi untuk diambil darah melalui jantung.

Pemberian Pakan Diet Tinggi Lemak dan Pakan Diet Normal. Komposisi pakan diet normal dan diet tinggi lemak yang akan diberikan pada hewan uji terdiri dari vitamin, selulosa, kolesterol, lemak hewani, sukrosa, tepung jagung dan kasein seperti yang dijabarkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi pakan diet tinggi lemak dan pakan diet normal¹⁶.

Bahan	Jumlah (%)	
	Pakan diet normal	Pakan diet tinggi lemak
Vitamin	5	5
Selulosa	5	5
Kolesterol	0,5	0,5
Lemak hewani	4,5	20
Sukrosa	15	20
Tepung jagung	34,5	40
Kasein	20	25

Pemeriksaan Profil Lipid dan Penentuan Indeks Aterogenik. Sampel darah tikus putih jantan pada hari ke-0 dan ke-14 diambil menggunakan tabung hematokrit melalui sinus orbitalis sebanyak 1 mL. Darah yang keluar ditampung dengan vaculab ukuran 3 ml kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Hari ke-36 tikus dianestesi menggunakan *ketamine xylazine* 0,2 mL dan di nekropsi. Darah diambil pada organ jantung menggunakan jarum disposable 5 mL dan ditampung dalam vaculab 3 mL kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 300 rpm selama 10 menit. Serum kemudian dikumpulkan menggunakan micro pipet dan dimasukkan kedalam tabung *eppendorf* untuk selanjutnya diperiksa menggunakan alat respons[®] 901. Indeks aterogenik dihitung menggunakan rumus⁽¹⁷⁾:

$$\text{Indeks Aterogenik} = \frac{\text{Kolesterol Total} - \text{HDL}}{\text{HDL}}$$

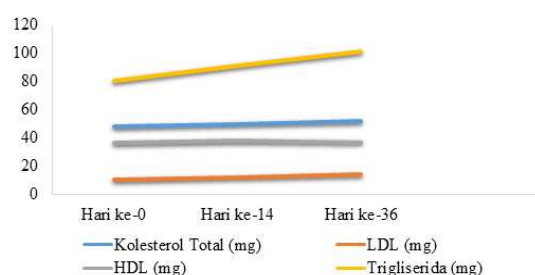
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan Optimasi. Pemeriksaan Profil Lipid.

Hasil penelitian kadar kolesterol total, HDL, LDL dan Trigliserida pada hewan uji tikus jantan galur SD dilakukan analisis deskriptif dan dimasukkan dalam Tabel 2. Dalam Tabel 2. ditunjukkan bahwa kadar kolesterol serum 1 ekor tikus jantan Sprague dawley pada hari ke-0 dan ke-14 masih dalam angka normal, dimana diketahui nilai normal kadar kolesterol total serum yaitu 10-54 mg/dL⁽¹⁸⁾, namun terjadi peningkatan pada hari ke-36 untuk kolesterol total menjadi 59 mg/dl. Nilai LDL serum terjadi peningkatan pada hari ke-36, dibandingkan dengan nilai normal, yaitu: 7-27.2 mg/dL⁽¹⁹⁾. Nilai HDL dan trigliserida serum pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36 masih dalam nilai normal masing-masing yaitu ≥ 35 mg/dL⁽²⁰⁾ dan 26-145 mg/dL⁽²¹⁾.

Kurva kadar profil lipid serum ditunjukkan dalam Gambar 1. Pada Tabel 3. menunjukkan bahwa nilai

rata-rata nilai profil lipid hewan uji 2 sampai 5 pada hari ke-0 masih berada pada batas normal. Nilai profil lipid (kolesterol total, LDL dan TG) terjadi peningkatan saat pemeriksaan pada hari ke-14 dan ke-36. Sedangkan nilai HDL pada pemeriksaan hari ke-14 dan ke-36 terjadi penurunan berbeda dengan 1 ekor hewan uji tikus yang hanya diberi pakan diet normal sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 2. Pada Gambar 2 memperlihatkan bahwa komposisi diet tinggi lemak yang digunakan pada penelitian ini dapat



Gambar 1. Kurva kadar profil lipid serum (mg/dL) hewan uji tikus jantan galur SD (diet normal) tahap optimasi pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

meningkatkan nilai kolesterol total, LDL, TG dan dapat menurunkan nilai HDL serum darah tikus pada hari ke-14 dan berlanjut sampai hari ke-36. Pada uji kruskal wallis juga menunjukkan perbedaan yang nyata dari 4 ekor hewan uji yang diberikan pakan diet tinggi lemak dan yang tidak diberikan pakan diet tinggi lemak dengan nilai $p < 0.05$. Pada penelitian yang dilakukan oleh Isdadiyanto S (2015), diketahui bahwa pemberian komposisi pakan diet tinggi lemak yang menggunakan campuran vitamin, selulosa, kolesterol, lemak, karbohidrat, sukrosa dan kasein dapat meningkatkan kadar profil lipid dan meningkatkan kadar apoprotein A dan apoprotein B16. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan oleh Ismawati *et al* (2017) diketahui bahwa pemberian vitamin D3, karbohidrat dan lemak pada berbagai konsentrasi dapat mengakibatkan peningkatan kadar LDL sebagai penyebab terjadinya aterosklerosis⁽²²⁾. Pada komposisi pakan diet tinggi lemak menggunakan vitamin D3 untuk induksi aterosklerosis, penambahan vitamin D3 dilakukan untuk meningkatkan klasifikasi pembuluh darah dan stimulasi proliferasi sel otot polos pembuluh darah sehingga mengakibatkan terbentuknya penebalan pada fibromuskular intimal⁽²²⁾. Sementara penggunaan lemak yaitu lemak jenuh yang memungkinkan peningkatan absorpsi kolesterol dalam makanan atau mengurangi sekresi dalam feses. Lemak jenuh dapat merangsang produksi kolesterol berlebihan dalam hati atau memudahkan penimbunannya di dalam darah⁽²³⁾.

Tabel 2. Kadar profil lipid serum tikus (mg/dL) kontrol normal.

Hewan uji 1 (Kontrol normal)	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-36
Kolesterol total (mg)	48	50	52
LDL (mg)	10	12	14
HDL (mg)	36	38	37
Trigliserida (mg)	80	91	101

Penggunaan karbohidrat pada komposisi diet tinggi lemak dikarenakan adanya konsumsi karbohidrat yang berlebihan dapat memicu penyakit jantung pada seseorang. Karbohidrat berlebih bisa meningkatkan kadar glukosa di dalam darah dan berakibat pada resiko penyakit jantung yang semakin tinggi. Konsumsi tinggi karbohidrat cenderung meningkatkan kadar trigliserida dan menurunkan kadar kolesterol HDL. Senyawa trigliserida yakni jenis lemak yang biasanya dijumpai di dalam darah yang mengandung glukosa lebih. Kadar trigliserida tinggi dan HDL rendah maka akan berpengaruh pada aterosklerosis dan berimbas pada penyakit jantung sehingga dapat terjadi serangan jantung yang mendadak⁽²⁴⁾.

Penentuan Indeks Aterogenik pada Tahapan Optimasi. Pada Tabel 4. menunjukkan bahwa indeks aterogenik pada 4 ekor tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak sangat tinggi jika dibandingkan dengan 1 ekor tikus putih jantan yang diberi diet normal. Terjadi peningkatan rata-rata indeks aterogenik pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak pada hari ke 14 sebanyak 1,11 menjadi 1,93 pada hari ke-36. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi diet tinggi lemak yang digunakan pada tahapan optimasi dapat mengakibatkan terjadinya aterosklerosis jika

dilihat dari indeks aterosklerosis yang diperoleh.

Tahapan Pengujian. Pemeriksaan Kolesterol

Total. Rata-rata kadar kolesterol total pada tikus dengan kontrol negatif (tikus yang diberikan pakan

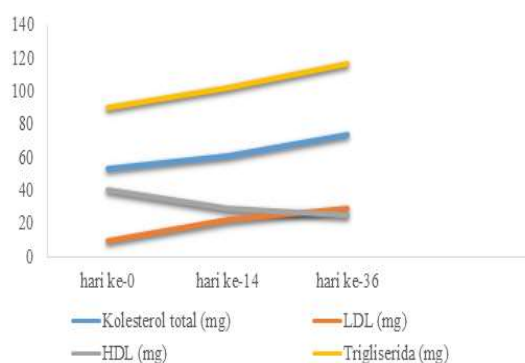
Tabel 4. Rata-rata Indeks Aterogenik tikus tahapan optimasi pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

Hewan Uji	Indeks Aterogenik		
	Hari ke-		
	0	14	36
Diet normal	0,38	0,36	0,48
Diet tinggi lemak	0,31	1,10	1,95

diet tinggi lemak) pada hari ke-14 sebesar 65,6 mg/dL dan pada hari ke-36 sebesar 78,2 mg/dL lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok I yang diberi pakan diet normal. Sedangkan rata-rata kadar kolesterol total kelompok VI (tikus yang diberikan pakan diet tinggi lemak dan crude fucoidan dosis 200 mg/kg BB) saat pemeriksaan pada hari ke-36 sebesar 65 mg/dL lebih besar dibandingkan kelompok IV dan V, namun

Tabel 3. Rata-rata kadar profil lipid serum tikus (mg/dL) pada tahap optimasi sebelum dan setelah pemberian diet tinggi lemak.

Hewan uji (Tikus II-IV)	Kolesterol total			LDL			HDL			Trigliserida		
	Hari ke-			Hari ke-			Hari ke-			Hari ke-		
	0	14	36	0	14	36	0	14	36	0	14	36
Median	53,5	61	73,5	10	22	29	40,5	29	25	90,5	102	116,5
Mean ± SD	53,25 ± 2,72	61 ± 3,36	73,5 ± 2,5	9,75 ± 2,87	22,25 ± 2,21	29,25 ± 1,25	41,25 ± 2,62	29 ± 4,08	25 ± 2,30	90 ± 2,10	102,25 ± 3,30	116,5 ± 3,10



Gambar 2. Kurva kadar profil lipid serum (mg/dL) rata-rata hewan uji tikus jantan galur SD (diet tinggi lemak) tahap optimasi pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

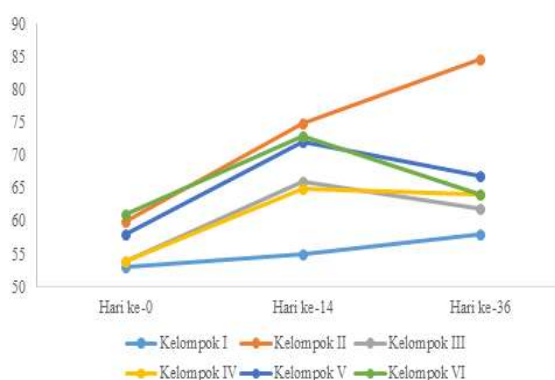
lebih kecil dibandingkan kelompok III yang diberi atorvastatin dosis 10 mg/kg BB (Gambar 3).

Pemeriksaan High Density Lipoprotein (HDL).

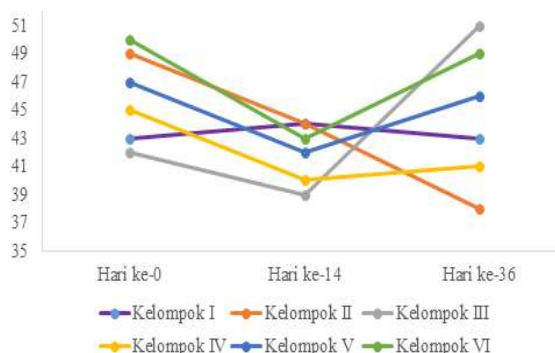
Pada Gambar 4 menunjukkan rata-rata kadar kolesterol HDL kelompok VI (tikus yang diberikan pakan diet tinggi lemak dan crude fucoidan dosis 200 mg/kg BB) saat pemeriksaan pada hari ke-36 mengalami kenaikan yaitu 47,8 mg/dL lebih besar dibandingkan kelompok IV yang diberikan crude fucoidan dosis 50 mg dan kelompok V yang diberikan crude fucoidan dosis 100 mg namun lebih kecil dibandingkan kelompok III yang diberi atorvastatin dosis 10 mg/kg BB yang mengalami kenaikan kadar HDL rata-rata sebesar 51,2 mg/dL. Sedangkan

kadar HDL rata-rata kelompok I yang diberikan pakan diet normal tidak mengalami penurunan kadar HDL yang signifikan berbeda dengan kelompok II yang diberikan pakan diet tinggi lemak yang mengalami rata-rata penurunan pada hari ke-36 sebesar 37,4 mg/dL.

Pemeriksaan Low Density Lipoprotein (LDL). Pada Gambar 5. menunjukkan rata-rata kadar kolesterol LDL kelompok VI (tikus yang diberikan



Gambar 3. Kurva kadar kolesterol total (mg/dL) rata-rata hewan uji tikus jantan galur SD tahap pengujian pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

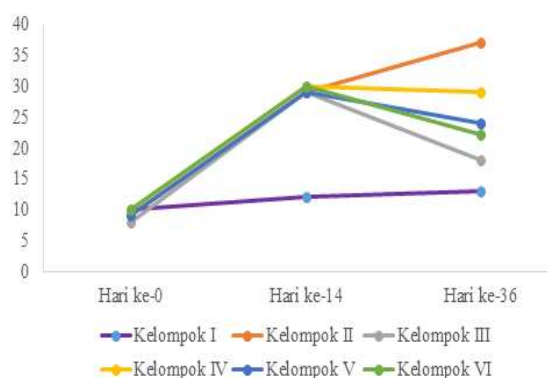


Gambar 4. Kurva kadar kolesterol HDL (mg/dL) rata-rata hewan uji tikus jantan galur SD tahap pengujian pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

pakan diet tinggi lemak dan crude fucoidan dosis 200 mg/kg BB) saat pemeriksaan pada hari ke-36 mengalami penurunan yaitu 22,2 mg/dL lebih besar dibandingkan kelompok IV yang diberikan crude fucoidan dosis 50 mg dengan rata-rata penurunan kadar sebesar 28,6 mg/dL dan kelompok V yang diberikan crude fucoidan dosis 100 mg dengan rata-rata penurunan kadar sebesar 24 mg/dL namun lebih kecil dibandingkan kelompok III yang diberi atorvastatin dosis 10 mg/kg BB yang mengalami rata-rata penurunan kadar LDL sebesar 17,8 mg/dL.

Sedangkan rata-rata kenaikan kadar LDL kelompok I yang diberi pakan diet normal pada saat pemeriksaan hari ke-36 hanya sebesar 12,8 mg/dL, berbeda dengan rata-rata kenaikan kadar LDL kelompok II yang diberi pakan diet tinggi lemak saat pemeriksaan hari ke-36 yaitu sebesar 37,2 mg/dL.

Pemeriksaan Trigliserida. Pada Gambar 6. menunjukkan rata-rata kadar trigliserida kelompok VI (tikus yang diberikan pakan diet tinggi lemak dan

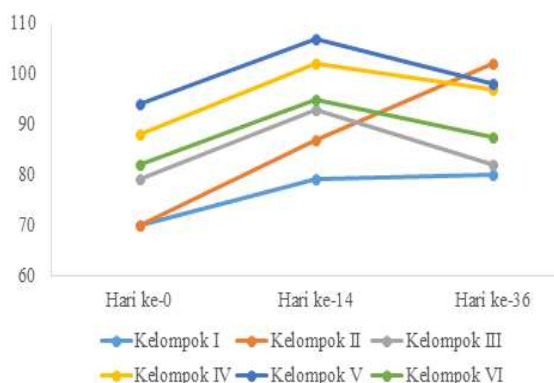


Gambar 5. Kurva kadar kolesterol LDL (mg/dL) rata-rata hewan uji tikus jantan galur SD tahap pengujian pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

crude fucoidan dosis 200 mg/kg BB) saat pemeriksaan pada hari ke-36 mengalami penurunan yaitu 87,4 mg/dl lebih besar dibandingkan kelompok IV yang diberikan *crude fucoidan* dosis 50 mg dengan rata-rata penurunan kadar sebesar 95,6 mg/dL dan kelompok V yang diberikan *crude fucoidan* dosis 100 mg dengan rata-rata penurunan kadar sebesar 97,8 mg/dL namun lebih kecil dibandingkan kelompok III yang diberi atorvastatin dosis 10 mg/kg BB yang mengalami rata-rata penurunan kadar trigliserida sebesar 82,2 mg/dL. Sedangkan rata-rata kenaikan kadar TG kelompok I yang diberi pakan diet normal pada saat pemeriksaan hari ke-36 hanya sebesar 80 mg/dL, berbeda dengan rata-rata kenaikan kadar LDL kelompok II yang diberi pakan diet tinggi lemak saat pemeriksaan hari ke-36 yaitu sebesar 101,4 mg/dL. Berdasarkan uji Kruskal Wallis yang dilakukan terhadap kadar profil lipid dalam kelompok perlakuan, didapat bahwa kadar profil lipid kelompok II berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan semua kelompok perlakuan dan kelompok III berbeda bermakna dengan kelompok IV yang diberi *crude fucoidan* dosis 50 mg dan kelompok V yang diberi *crude fucoidan* dosis 100 mg namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok VI yang diberi *crude fucoidan* dosis 200 mg ($p > 0,05$).

Penentuan Indeks Aterogenik. Indeks aterogenik merupakan indikator untuk mengetahui resiko

aterosklerosis yang merupakan penyebab utama



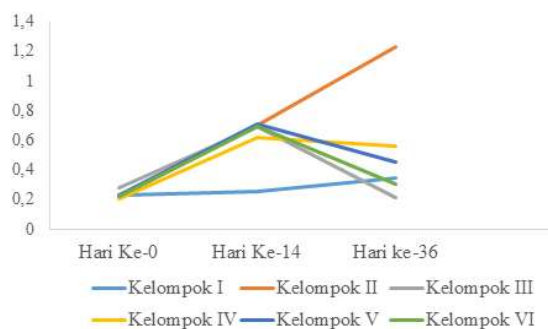
Gambar 6. Kurva kadar trigliserida (mg/dL) rata-rata hewan uji tikus jantan galur SD tahap pengujian pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

penyakit jantung koroner⁽¹⁷⁾. Tabel 5. menunjukkan bahwa indeks aterogenik tikus yang hanya diberi diet tinggi lemak (kontrol negatif) sangat tinggi dibandingkan dengan tikus yang diberi diet normal dan perlakuan berupa atorvastatin sebagai kontrol positif dan *crude fucoïdan* pada hari ke-15 sampai hari ke-35.

Kelompok tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak memiliki indeks aterogenik tertinggi pada hari ke 36 sebesar 1,23 dibandingkan dengan tikus putih jantan yang diberi pakan diet normal sebesar 0,42. Sementara kelompok tikus putih jantan yang

diberi pakan diet tinggi lemak dan atorvastatin 10 mg memiliki indeks aterogenik yang menurun sangat signifikan pada hari ke-36 yaitu dari 0,69 menjadi 0,21. Diikuti kelompok dengan pemberian diet tinggi lemak dan *crude fucoïdan* dosis 200 mg yang memiliki indeks aterogenik dari 0,69 menjadi 0,30 (Gambar 7). Hal ini menunjukkan bahwa *crude fucoïdan* efektif untuk terapi anti aterogenik.

Kadar LDL yang tinggi dalam darah dapat menyebabkan meningkatnya jumlah partikel LDL yang masuk ke sub intima pembuluh darah di daerah predileksi. LDL kemudian ditangkap makrofag melalui pengikatan pada reseptor LDL, dan karena kapasitas makrofag untuk menangkap LDL terbatas,



Gambar 7. Kurva Indeks Aterogenik rata-rata hewan uji tikus jantan galur SD tahap pengujian hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

Tabel 5. Rata-rata Indeks Aterogenik tikus tahapan pengujian pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

Hewan uji	Indeks Aterogenik (IA)		
	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-36
Kelompok I (Diet normal)	0,23	0,25	0,34
Kelompok II (Diet tinggi lemak)	0,22	0,70	1,23
Kelompok III (Atorvastatin 10 mg)	0,28	0,69	0,21
Kelompok IV (<i>Crude fucoïdan</i> 50 mg)	0,2	0,62	0,56
Kelompok V (<i>Crude fucoïdan</i> 100 mg)	0,23	0,71	0,45
Kelompok VI (<i>Crude fucoïdan</i> 200 mg)	0,22	0,69	0,30

maka jumlah partikel LDL sub intima meningkat. Akibatnya, terdapat sejumlah sisa partikel LDL yang akan dioksidasi oleh makrofag dan otot polos, menghasilkan ion mo-LDL (*midly oxidized* LDL) atau LDL-oks. LDL-oks kemudian ditangkap oleh makrofag melalui reseptor ScR (*scavenger-receptor*) secara terus menerus dan berubah menjadi sel busa. LDL-oks bersifat sitotoksik sehingga menimbulkan kematian sel busa dan terjadi penumpukan lemak (kolesterol) ekstrasel. Kadar LDL yang tinggi dan

penebalan dinding aorta abdominalis merupakan penyebab primer aterosklerosis^(5,6). *S. polycystum* merupakan salah satu rumput laut yang banyak mengandung bahan kimia serta berpotensi untuk dimanfaatkan dan dikembangkan. Kandungan kimia dari *S. polycystum* diantaranya yaitu protein, vitamin C, tanin, iodin, fenol, alginat dan *fucoidan* yang dapat digunakan sebagai bahan pangan dan obat-obatan⁽¹¹⁾. Pada penelitian sebelum ekstrak rumput laut coklat (*S. polycystum*) dibuat sediaan nanopartikel dan di uji

Tabel 6. Rata-rata kadar profil lipid serum tikus (mg/dL) pada hari ke-0, ke-14 dan ke-36.

Hewan Uji		LDL			HDL			Trigliserida			Kolesterol Total		
		Hari ke-			Hari ke-			Hari ke-			Hari ke-		
		0	14	36	0	14	36	0	14	36	0	14	36
Kelompok I (Diet normal)	Median	10	12	13	43	44	43	70	79	80	53	55	58
	Mean ± SD	10,4 ± 1,14	11,6 ± 2,07	12,8 ± 1,30	44,6 ± 4,97	44,4 ± 4,39	44 ± 4,35	71,4 ± 2,79	79,2 ± 3,27	80 ± 3,08	53,2 ± 0,83	55,8 ± 1,27	58,2 ± 1,30
	Median	9	29	37	49	44	38	70	87	102	60	75	84,6
Kelompok II (Diet tinggi lemak)	Mean ± SD	9 ± 2	29,4 ± 1,14	37,2 ± 1,92	48,8 ± 3,27	43,6 ± 3,64	37,4 ± 4,21	71,2 ± 4,43	86,4 ± 4,44	101,4 ± 4,03	60,4 ± 5,12	75,2 ± 1,30	85 ± 3,04
	Median	8	29	18	42	39	51	79	93	82	54	66	62
Kelompok III (Kontrol positif: Atorvastatin 10 mg/kgBB)	Mean ± SD	8 ± 1,22	28,6 ± 1,14	17,8 ± 0,83	45,8 ± 6,38	40,6 ± 6,38	51,2 ± 6,90	78,2 ± 4,76	92 ± 4,84	82,2 ± 5,26	57,2 ± 6,90	70 ± 9,97	63 ± 9,46
	Median	10	30	29	45	40	41	88	102	97	54	65	64
Kelompok IV (Crude fucoidan 50 mg)	Mean ± SD	9,8 ± 1,48	30,4 ± 1,81	28,6 ± 2,07	45 ± 5,09	41 ± 4,74	42 ± 4,94	86 ± 6,96	100,4 ± 6,10	95,6 ± 6,50	57 ± 9,13	67,2 ± 8,92	64 ± 9,82
	Median	9	29	24	47	42	46	94	107	98	58	72	67
Kelompok V (Crude fucoidan 100 mg)	Mean ± SD	9,6 ± 2,07	30 ± 2	24 ± 2,23	49,8 ± 4,81	44,4 ± 3,36	46,8 ± 3,70	91,8 ± 6,72	104,7 ± 5,58	97,8 ± 2,86	57,8 ± 7,88	76,2 ± 9,49	72,2 ± 8,87
	Median	10	30	21	50	43	49	82	95	89	61	73	64
Kelompok VI (Crude fucoidan 200 mg)	Mean ± SD	10 ± 2,12	30,6 ± 2,70	22,2 ± 2,16	48,4 ± 4,72	42 ± 3,31	47,8 ± 3,11	80,4 ± 10,78	93,8 ± 9,23	87,4 ± 9,23	59,4 ± 5,41	71,2 ± 6,26	61,8 ± 5,67

efek anti platelet secara *in vivo* dan diketahui bahwa sediaan ekstrak rumput laut coklat (*S. polycystum*) dapat memperpanjang waktu pendarahan dan waktu koagulasi pada tikus dimana senyawa fucoidan yang terdapat pada rumput laut coklat (*Sargassum sp.*) dapat mencegah agregasi trombosit yang diinduksi oleh trombin. Senyawa flavonoid dapat menghambat berbagai tahap pembentukan aterosklerosis, kerusakan endotel, aktivasi leukosit, adhesi, agregasi, dan sekresi trombosit⁽²⁵⁾.

SIMPULAN

Pemberian *crude fucoidan* dosis 200 mg dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL, Trigliserida dan meningkatkan kadar HDL serum tikus putih jantan yang diberi pakan diet tinggi lemak selama 35 hari dengan indeks aterogenik sebesar 0,34,

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kemenristek DIKTI yang telah membiayai penelitian ini melalui SIMLITABMAS Hibah Tim Pasca sarjana tahun 2017/2018.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widowati W. Peran antioksidan sebagai agen hipokolesterolemia, pencegah oksidasi lipid dan aterosklerosis [Skripsi]. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha; 2007.
2. World Health Organization. Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control. Published by the World Health Organization in collaboration with the World Heart Federation and the World Stroke Organization [Internet]. 2011. p 3 [cited 4 Maret 2018]. Available from: https://www.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf.
3. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Pokok-pokok hasil Rideskas Indonesia Tahun 2013. Lembaga Penerbit Blitbangkes [Internet]. 2014. Available from: www.depkes.go.id/resources/download/general.
4. Wong AP, Mohamed AL, Niedzwiecki A. Atherosclerosis and the cholesterol theory: A Reappraisal. *World Journal of Cardiovascular Disease*. 2016 Januari;6(11):391-409.
5. Sakakura K, Nakato M, Otsuka F, Ladich E, Kolodgie FD, Virmani R. Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque Progression. *Journal Review, CVPPath Institute, Inc*. 2013 Juni;22(6):399-411.
6. Linna M. Oxidized LDL Lipids as a risk factor for atherosclerosis. Faculty of Medicine University of Turku; 2014:12-24.
7. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia. Pedoman tatalaksana dislipidemia. Edisi 1. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia. Jakarta. 2013:41.
8. Sever PS, Dahloi B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial– Lipid Lowering Arm (ASCOT–LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Dalam Medicinus: Dyslipidemia. Scientific Journal of Pharmaceutical Development and Medical Application*. 2013 December;26(1):43-60.
9. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Informatorium Obat Nasional Indonesia 2014 (IONI). Jakarta; 2014.
10. Putra SE. Alga laut sebagai biotarget industri [Internet]. 2012. [cited 11 Februari 2018] Available from: <http://www.energi.lipi.go.id/utama.cgi?artikel211586897.htm>.
11. Pakidi CS, Sawoyo HS. Potensi dan pemanfaatan bahan aktif alga coklat *Sargassum Sp*. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau, Maros. 2016 Juni;5(2):488-98.
12. Sinurat, E. dan Kusumawati, R. Optimasi metode ekstraksi fukoidan kasar dari rumput laut coklat *Sargassum Binderi Sonder*. JPB Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 2017 November 23;12(2):125-34.
13. Kartinningsih, Fitria, Abdillah S. Preparation of nanoparticles of the extract of the brown seaweed (*Sargassum polycystum*) and *in vivo* anti platelet testing. *International Journal of ChemTech Research*. 2018;11(6):190-95.
14. Ningrum RRDS, Hardoko, Sosmito BB. Pengaruh ekstrak kasar fukoidan alga coklat *Sargassum polycystum* sebagai antikanker terhadap viabilitas sel HELA. *THPI Student Journal*. 2013;1(1):83-92
15. Diachanty S, Nurjanah, Abdullah A. Aktivitas antioksidan berbagai jenis rumput laut coklat dari perairan kepulauan seribu. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor; 2017:20(2).
16. Isdadiyanto S. Kadar apoprotein A dan apoprotein B serum darah tikus putih Sprague Dawley hiperlipidemia setelah diberi cangkang udang laut (*Penaes monodon F*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*; 2015:23(2):101-8.
17. Herpandi, Astawan M, Wresdiyati T, Sri PN. Perbandingan profil lipida, kolesterol digesta dan asam propionat pada tikus dengan diet tepung rumput laut. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2006 Mei;7(3):227-32.
18. Smith BVSc, Mangkoewidjojo S. Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis. International Development Program of Australian Universities and Collages: Penerbit Universitas Indonesia; 1988. 39 p.
19. Riesanti DG, Padaga C, Herawati. HDL levels,

- LDL levels and aorta's histopathologic appearance hypercholesterolemia rats (*Rattus norvegicus*) of effect therapy water extract of mango's mistletoe (*Dendrophthoe pentandra*). Universitas Brawijaya. Malang. 2012.
20. Herwiyarirasanta, BA. Effect of black soybean extract supplementation in low density lipoprotein level of rats (*Rattus norvegicus*) with high fat diet. Science Article Universitas Airlangga. Surabaya. 2010 Juni;9(3):217-21.
 21. Herperion, Kurniawaty E, Susantiningsih T. The effect of jengkol's seed ethanol extract (*Pithecelobium lobatum Benth.*) to triglyceride level in male Sprague Dawley rats (*Rattus norvegicus*) induced by alloxan. Medical Faculty of Lampung University. 2004;9(3):2337-3776.
 22. Ismawati, Oenzil F, Yanwirasti, Terizel E. Analisis konsentrasi low density lipoprotein teroksidasi serum pada tahapan aterosklerosis. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2017;29(4):348-52.
 23. Yuliantini E, Sari AP, Nur E. Hubungan asupan energi, lemak dan serat dengan rasio kadar kolesterol total-HDL (intake of energy, fat and fiber content with the ratio of total cholesterol-HDL). Poltekkes Kemenkes Bengkulu, Bengkulu: 2015 Des 10;38(2):139-47.
 24. Rini DRS. Hubungan asupan karbohidrat dan lemak dengan kadar profil lipid pada pasien jantung koroner rawat jalan di RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Naskah Publikasi Ilmiah. 2015.
 25. Kartiningsih, Fitria, Abdillah S. Preparation of nanoparticle of the extract of the brown seaweed (*Sargassum polycystum*) and in vivo anti platelet testing. International Journal of ChemTech Research 2018; 11(6):190-95.

Natrium Alginat Sebagai Polimer Mukoadhesif Terhadap Daya Lekat Serta Pelepasan Granul Mukoadhesif Amoksisilin (Sodium Alginate as A Mucoadhesive Polymer to Adhesion Strength and Amoxicillin Mucoadhesion Granul Release)

YUDI SRIFIANA*, ARI WIDAYANTI, NOPRIADI

*Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Diterima 2 Januari 2019, Disetujui 22 Maret 2019

Abstrak: Mukoadhesif merupakan bentuk sediaan bioadhesif yang membentuk ikatan dengan membran mukosa. Sediaan mukoadhesif bertahan pada mukosa dalam periode waktu yang diperlama sehingga dapat meningkatkan ketersediaan hayati obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan natrium alginat sebagai polimer bioadhesif terhadap daya lekat sediaan. Granul mukoadhesif dibuat menggunakan amoksisilin sebagai model zat aktif dan natrium alginat sebagai polimer bioadhesif dengan metode granulasi basah. Evaluasi granul yang dilakukan yaitu uji susut pengeringan, uji distribusi ukuran partikel, uji *wash off* menggunakan mukosa lambung tikus dan uji disolusi. Hasil perolehan kembali F1, F2, F3, F4, F5, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg, 620 mg. Hasil uji sifat alir 10,78-11,75 g/detik dan sudut diam 33,50-35,15°, hasil uji distribusi ukuran patikel berada pada rentang 1410-1680 µm, susut pengeringan 11,07-13,57%, uji wash off F1, F2, F3, F4, dan F5 yaitu 12,67, 14,00, 18,67, 26,00, dan 33,33%. Uji anova 2 arah terhadap % terdisolusi dan hasil uji *wash off* menghasilkan nilai sig. <0,05, sehingga terdapat perbedaan bermakna antar formula. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi natrium alginat dapat meningkatkan daya mukoadhesif granul amoksisilin pada mukosa lambung tikus tetapi kurang dapat menahan pelepasan obat, dan formula yang paling baik adalah formula 3 yang mengandung natrium alginat 580 mg.

Kata kunci: Natrium alginat, polimer bioadhesif, granul mukoadhesif.

Abstract: Mucoadhesive is a bioadhesive dosage form which forms a bond with mucous membranes. Mucoadhesive dosage forms stayed on mucous membranes in prolonged time so can increase bioavailability. This study intended to determine the effect of sodium alginate as bioadhesive polymer to mucoadhesive strength of granules. The granules prepared using amoxicillin as active agent and sodium alginate as bioadhesive polymer by wet granulation method. Granule evaluation are moisture content, particle size, wash off test using rat stomach and dissolution test. Test results of total recovery F1, F2, F3, F4, F5, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg, 620 mg. Test results of flow rate 10,78-11,75 g/second, and angle of repose 33,50-35,15°, test of particle size distribution in the range of 1410-1680 µm, moisture content from 11.07 to 13.57%, wash off test of F1, F2, F3, F4 and F5 as consecutively 12.67, 14.00, 18.67, 26.00 and 33.33%. 2-way ANOVA test to % dissolution and wash-off test results sig. <0.05, so there is a significant difference between formulas. Based on the results showed that increasing concentration of sodium alginate increase mucoadhesive strength of granules but less able to resist of drug release, and the best formula is F3 that containing sodium alginate 580 mg.

Keywords: Sodium alginate, bioadhesive polymer, mucoadhesive granules.

PENDAHULUAN

ANTIBIOTIK golongan beta laktam mempunyai sifat farmakodinamik *nonconcentration-dependent* dan memiliki jendela absorpsi sempit pada bagian atas usus halus(1). Amoksisilin merupakan salah satu antibiotik golongan β -laktam dan berspektrum luas, memiliki waktu paruh sekitar 1-1,5 jam(2). Amoksisilin merupakan antibiotik lini pertama untuk infeksi *Helicobacter pylori* yang merupakan mikroba anaerob penyebab pada hampir 90% kasus ulkus peptikum(3). Amoksisilin sebagai obat terapi untuk *H. pylori* harus memiliki konsentrasi yang efektif dan tinggal dalam waktu yang lama di dalam lambung. Dengan cara melokalisasi sistem penghantaran obat pada lambung diharapkan dapat meningkatkan jumlah obat yang diabsorpsi sehingga meningkatkan efektivitasnya dalam mengobati *H. Pylori* terkait tukak lambung. Sistem mukoadhesif tertahan di lambung merupakan salah satu alternatif untuk penghantaran amoksisilin tersebut.

Mukoadhesif merupakan bentuk sediaan bioadhesif yang membentuk ikatan dengan membran mukosa sehingga dapat meningkatkan waktu tinggal obat. Sistem ini memungkinkan waktu pelepasan dan penyerapan obat lebih lama dan konstan di tempat/ lokasi terjadinya absorpsi, sehingga ketersediaan hayati obat meningkat. Material mukoadesif kebanyakan adalah dalam bentuk sintesis, hidrofilik alami, atau polimer yang tidak larut air dan mampu membentuk sejumlah ikatan hidrogen karena adanya gugus karboksil, sulfat atau gugus hidroksi. Polimer sintesis misalnya karbomer, hidroksi propil selulosa (HPC), hidroksi propil metil selulosa (HPMC), hidroksi etil selulosa dan polikarbonil. Polimer alami misalnya xantan gum, natrium alginat, gelatin, akasia, dan tragakan. Polimer bioadhesif bukan saja mampu memberikan efek adhesif tetapi juga dapat mengontrol laju pelepasan obat(4).

Penelitian yang dilakukan oleh Indrawati dkk. (2005), natrium alginat dapat digunakan sebagai polimer bioadhesif. Natrium alginat merupakan suatu polisakarida yang diperoleh dari alga coklat yang merupakan suatu kopolimer yang terdiri dari β -D asam manuronat (M) dan α (1,4)-L asam guluronat

(G). Natrium alginat mempunyai banyak gugus karboksilat. Bahan bioadhesif yang mengandung gugus karboksilat dalam suasana asam akan menjadi bentuk asamnya yang akan membentuk ikatan hidrogen dengan asam sialat, rantai oligosakarida atau pada protein dari musin. Polimer ini juga tidak bersifat toksik, tidak memberikan reaksi alergi dan dapat terurai dalam tubuh(5). Sehingga diharapkan memberikan sifat bioadhesif yang lebih baik pada sediaan.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Amoksisilin trihidrat baku (Heibei zhongrun), amoksisilin trihidrat (DSM sinochem), natrium alginat (Qingdaoli yang seaweed group), laktosa (Meggle), HCl, NaCl 0,9% (b/v), lambung tikus, lem sianokrilat dan larutan lambung buatan.

Alat. Alat uji disolusi (Elektrolab), spektrofotometer UV-VIS (PG Instrumen T60), oven (Mettler), pH meter (Mettler Toledo), timbangan analitik (Mettler Toledo), alat uji *wash off* (*Disintegration tester*), ayakan nomor 14, alat uji kecepatan waktu alir, ayakan bertingkat, alat-alat bedah dan alat-alat gelas.

METODE. Formulasi granul mukoadhesif.

Granul mukoadhesif dibuat dengan mencampurkan amoksisilin, laktosa dan natrium alginat secara granulasi basah dengan pembasah air (natrium alginat-air 1:1). Bahan-bahan dicampur hingga terbentuk massa yang dapat dikepal. Massa yang terbentuk dilewatkan pada ayakan mesh 14, kemudian dikeringkan pada suhu 50°C selama 7 jam.

Susut pengeringan dilakukan dengan menimbang granul dalam keadaan basah, kemudian granul dikeringkan dan menimbang granul kering sampai diperoleh bobot tetap.

Sifat alir dan sudut diam. Sejumlah granul dimasukkan ke dalam corong uji waktu alir. Penutup corong dibuka sehingga granul mengalir keluar dan tertampung pada bidang datar yang dilapisi kertas grafik milimeter. Kemudian waktu alir dan sudut diam granul dicatat.

Perolehan kembali dapat diperoleh dengan cara membagi hasil penimbangan seluruh bahan yang digunakan, dengan hasil penimbangan granul yang

Tabel 1. Formula granul mukoadhesif amoksisilin

Bahan	Jumlah (mg)					Kegunaan
	F1	F2	F3	F4	F5	
Amoksisilin trihidrat	375	375	375	375	375	Zat Aktif
Natrium alginat	540	560	580	600	620	Polimer
Laktosa	8,5	6,5	4,5	2,5	0,5	Pengisi

telah dikeringkan.

Distribusi ukuran partikel dilakukan menggunakan ayakan bertingkat (*sieve shaker*) dengan menyusun satu seri ayakan dengan nomor 12, 14, 16, 18, 20 dan 24 secara menurun dari ukuran lubang ayakan yang paling besar. Kurang lebih 100 g granul ditempatkan dalam ayakan yang paling atas, kemudian mesin pengayak dijalankan dengan frekuensi 3 Hz selama 20 menit

Uji wash off dilakukan dengan menggunakan alat uji disintegrasi tablet. Jaringan lambung tikus yang telah dicuci dengan larutan NaCl fisiologis dilekatkan pada kaca objek dengan menggunakan lem sianokrilat. Sebanyak 50 granul ditempelkan pada mukosa lambung secara merata, kemudian dimasukkan ke dalam alat uji disintegrasi. Alat digerakkan naik turun sebanyak 30 kali per menit. Medium yang digunakan adalah cairan lambung buatan dengan suhu $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Pengamatan granul yang melekat dilakukan setiap 30 menit dan dihitung setelah 2 jam.

Penetapan kadar amoksisilin menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. Sejumlah massa granul yang setara dengan 20 tablet ditimbang, kemudian dihaluskan dan diaduk homogen. Setelah homogen, sejumlah serbuk yang setara dengan bobot rata-rata 1 tablet amoksisilin ditimbang dan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml kemudian dilarutkan dalam cairan lambung buatan tanpa enzim pH 1,2 hingga volume 100 ml. memipet 1,0 ml larutan ke dalam labu ukur 100 ml dan mencukupkan dengan medium sampai garis tanda batas. Kadar amoksisilin diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum.

Penetapan profil disolusi amoksisilin dari granul. Penentuan disolusi amoksisilin dari granul dilakukan menggunakan alat disolusi tipe 1 dalam medium cairan lambung buatan pH 1,2 sebanyak 900 ml. Suhu diatur $37 + 0,5^\circ\text{C}$ dengan kecepatan 50 putaran per menit. Sampel obat yang terlepas ke dalam medium diambil pada menit ke 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 360, 480 dan 720 sebanyak 12,0 ml. Setiap pengambilan sampel 12,0 mL, diganti dengan medium yang baru dengan volume yang sama dengan yang diambil. Kadar amoksisilin yang terdisolusi ditetapkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Analisa Data. Data yang dianalisa adalah data hasil uji disolusi granul mukoadhesif amoksisilin dianalisa dengan menggunakan analisa varian dua arah. 45, 60, 120, 360, 480 dan 720 sebanyak 12,0 ml. Setiap pengambilan sampel 12,0 mL, diganti dengan medium yang baru dengan volume yang sama dengan yang diambil. Kadar amoksisilin yang terdisolusi ditetapkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

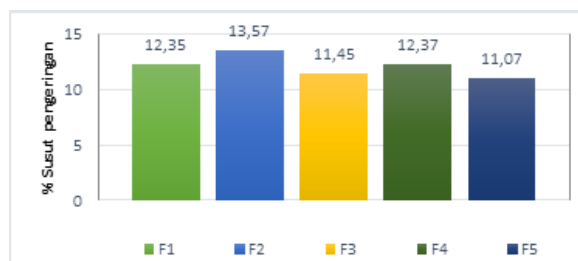
HASIL DAN PEMBAHASAN

Perolehan kembali Uji perolehan kembali digunakan untuk menilai metode yang digunakan bersifat reproduibel. Hal ini penting untuk pembuatan sediaan dalam skala besar. Granul dibuat menggunakan natrium alginat dengan beberapa konsentrasi yaitu F1 540 mg, F2 560 mg, F3 580 mg, F4 600 mg dan F5 620 mg. Formula 5 mempunyai perolehan kembali yang lebih besar yaitu 96,44% dibandingkan dengan formula lain (F1, F2, F3, dan F4). Perbedaan perolehan kembali ini disebabkan oleh menempelnya granul pada alat, ayakan dan hilangnya granul pada proses pembuatan.



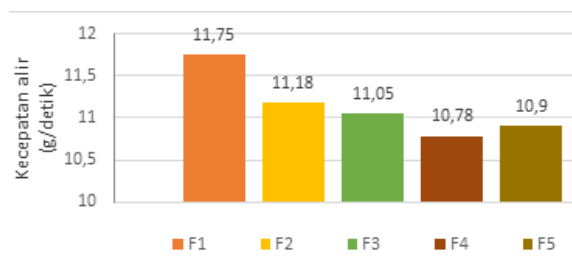
Gambar 1. Hasil perolehan kembali granul amoksisilin

Susut pengeringan. Susut pengeringan pada granul dipengaruhi jumlah air dan bahan yang mudah menguap dan hilang pada kondisi tertentu. Kandungan air yang terlalu tinggi dapat mempermudah pencemaran mikroba dan dapat menyebabkan ketidakstabilan fisik maupun kimia dari suatu sediaan farmasi. Susut pengeringan dipengaruhi oleh higroskopisitas bahan dan lamanya waktu pengeringan. Semakin lama granul dikeringkan dalam oven, semakin turun kadar airnya dan semakin tinggi nilai susut pengeringannya. Keseluruhan formula memiliki nilai susut pengeringan 11,07-13,57 %.



Gambar 2. Hasil susut pengeringan granul mukoadhesif amoksisilin

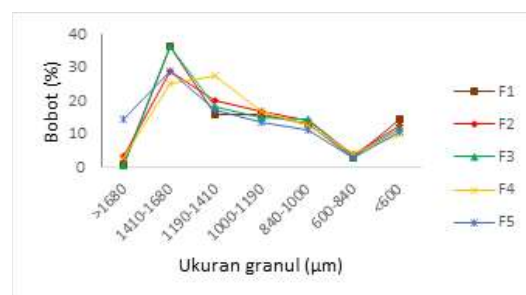
Sifat alir dan sudut diam. Kemampuan granul untuk mengalir dilihat dari banyaknya granul yang mengalir tiap detik serta dari sudut baringnya. Evaluasi terhadap sifat alir dan sudut diam diperlukan untuk mengetahui sifat alir granul yang kemudian dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam pengemasan dan menjamin keseragaman bobot sediaan. Menurut Lachman dkk. (1994) sediaan yang memiliki sudut diam diantara 30-400 dan kecepatan alir >10 g/detik menunjukkan potensial aliran yang baik(6). Formula 1 memiliki kecepatan alir yang paling baik yaitu 11,75 g/detik. Semakin meningkat konsentrasi natrium alginat semakin menurun sifat alir granul, dikarenakan terbentuknya aglomerat. Hasil uji sifat alir secara keseluruhan berkisar antara 10,78-11,75 g/detik dan sudut diamnya berkisar antara 33,50-35,150. Berdasarkan data tersebut menunjukkan sifat mengalir yang baik.



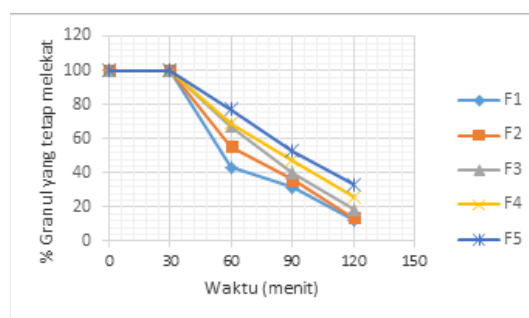
Gambar 3. Hasil sifat alir granul mukoadhesif amoksisilin

Distribusi ukuran partikel. Penentuan distribusi ukuran partikel granul dilakukan dengan metode ayakan bertingkat agar granul dapat dipisahkan berdasarkan ukurannya. Hal tersebut penting karena untuk pengujian *wash off* diperlukan granul dengan ukuran yang seragam agar luas permukaan granul yang berkontak dengan mukosa seragam. Formula 5 yang mengandung natrium alginat dengan konsentrasi 620 mg ukuran granulnya lebih besar pada diameter >1680 μm yaitu 14,4279%. Hal ini dikarenakan pada formula 5 memiliki perbandingan jumlah air yang lebih besar sehingga granul yang terbentuk semakin lengket saat pengayakan dan granul saling melekat membentuk aglomerat. Dilihat dari hasil distribusi kelima formula, granul dengan ukuran 1410-1680 μm cukup banyak dihasilkan dan cukup besar untuk diamati sehingga granul yang akan digunakan untuk uji *wash off* adalah granul dengan rentang ukuran 1410-1680 μm .

Uji wash off. Uji wash off dilakukan pada keseluruhan formula untuk mengetahui durasi pelekatan pada mukosa lambung pada kondisi ekstrim. Hasil uji *wash off* semua formula menunjukkan pelekatan granul pada mukosa lambung selama 2 jam antara 12,67-33,33%. Pengujian ini dilakukan



Gambar 4. Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel granul mukoadhesif amoksisilin



Gambar 5. Grafik uji wash off granul mukoadhesif amoksisilin

sampai waktu 2 jam, karena jika lebih dari 2 jam ketahanan jaringan mukosa sudah tidak layak lagi untuk pengujian(7). Hasil menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi natrium alginat yang digunakan semakin besar daya mukoadhesifnya.

Daya lekat tertinggi dimiliki oleh F5 (natrium alginat 620 mg) dengan persen granul yang masih tertinggal pada mukosa lambung sebesar 33,33% setelah 2 jam. Keseluruhan formula memiliki daya lekat yang baik pada 30 menit pertama, dimana % granul yang masih tertinggal pada mukosa lambung sebesar 100%. Granul yang tertinggal pada mukosa lambung setelah 1 jam mengalami penurunan yang signifikan pada keseluruhan formula. Hal ini disebabkan oleh sifat natrium alginat yang memiliki kecepatan hidrasi yang cepat sehingga granul dapat dengan cepat mengembang (*swelling*) jika kontak dengan air. Daya mengembang granul yang cepat menyebabkan fisik granul secara bertahap berubah menjadi gel. Gel yang terbentuk sebenarnya masih melekat pada mukosa lambung tetapi pada uji *wash off* parameter yang diamati adalah jumlah granul yang masih menempel.

Penetapan kadar Amoksisilin menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Penetapan kadar granul mukoadhesif amoksisilin menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 229,0 nm menggunakan medium cairan lambung buatan pH 1,2 tanpa enzim. Kadar amoksisilin dalam

Tabel 2. Penetapan kadar amoksisilin dalam granul mukoadhesif

% kadar granul mukoadhesif amoksisilin					
Formula	F1	F2	F3	F4	F5
Kadar (%)	90,69±1,04	82,58±0,91	98,39±1,19	89,86±2,90	93,50±1,35
Kadar (mg)	340,08±3,91	309,66±3,41	368,72±4,34	336,81±10,10	350,08±4,92

granul secara keseluruhan berkisar antara 82,58-98,33%. Persyaratan kadar kapsul amoksisilin dari FI ed IV yaitu antara 90-120%. Kadar kelima formula granul mukoadhesif amoksisilin jika dibandingkan persyaratan kadar kapsul amoksisilin yang memenuhi persyaratan adalah F1, F3 dan F5 dimana kadar masing-masing adalah 90,69, 98,39 dan 93,50%. Dapat disimpulkan bahwa metode granulasi basah dapat digunakan dalam formulasi granul mukoadhesif amoksisilin.

Penetapan profil disolusi amoksisilin dari granul. Pada sediaan dengan pelepasan dimodifikasi, terdapat aturan untuk menyatakan jumlah obat terlarut dengan penggunaan sediaan suatu obat yang dihubungkan dengan frekuensi atau interval pemberian obat, yaitu seperti ditunjukkan pada tabel 3. Hasil uji disolusi granul mukoadhesif amoksisilin selama 12 jam berturut-turut dari F1, F2, F3, F4 dan F5 adalah 80,36, 85,35, 74,66, 79,78 dan 72,21 %. Berdasarkan ketentuan yang telah dijelaskan oleh Banakar (1992) mengenai aturan untuk menaksir penggunaan suatu sediaan obat berdasarkan jumlah obat yang terdisolusi

Tabel 3. Syarat obat terlarut untuk sediaan lepas terkendali untuk sediaan lepas terkendali(8)

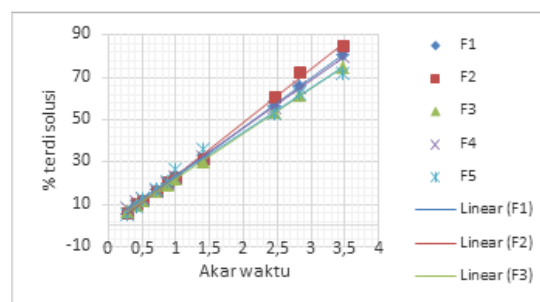
Q	Persen obat terlarut
Q _{0,25}	20-45%
Q _{0,5}	46-75%
Q ₁	>75%

pada waktu tertentu. Untuk granul F1, F2, dan F4 pelepasan obat pada jam ke 12 (720 menit) memenuhi syarat Q_{0,5} yang memiliki range 46-75%. Jika dilihat hasil disolusi dari F1, F2 dan F4, F2 memiliki persen disolusi yang paling besar karena granul pada F2 masih memiliki kandungan air yang cukup tinggi dibandingkan F1 dan F4 yang dapat dilihat dari hasil susut pengeringannya. Dengan demikian formula granul F1, F2 dan F5 dapat digunakan untuk sediaan lepas terkendali selama 12 jam. Pada F3 dan F5 pelepasan obat memenuhi persyaratan Q₁ sehingga

dapat digunakan untuk sediaan lepas terkendali selama 24 jam.

Pelepasan amoksisilin dari granul mukoadhesif.

Profil pelepasan amoksisilin dari granul mukoadhesif amoksisilin mendekati model higuchi karena menghasilkan garis lurus dengan nilai koefisien korelasinya mendekati 1. Pelepasan zat aktif yang mengikuti persamaan higuchi menunjukkan bahwa jumlah obat yang terlepas sebanding dengan akar waktu. Menurut persamaan higuchi mekanisme pelepasan obat dari granul terjadi secara difusi fickian yang artinya obat keluar dari sediaan karena natrium alginat mengembang (*swelling*) dan menjadi lapisan



Gambar 6. Model pelepasan Higuchi granul mukoadhesif amoksisilin

Keterangan :

- Persamaan garis F1 $y = 23,38x - 0,5886$ $r = 0,9996$
- Persamaan garis F2 $y = 25,261x - 1,4363$ $r = 0,9986$
- Persamaan garis F3 $y = 21,299x + 0,9508$ $r = 0,9998$
- Persamaan garis F4 $y = 22,69x + 0,8092$ $r = 0,9997$
- Persamaan garis F5 $y = 20,831x + 2,4774$ $r = 0,9949$

gel, melalui lapisan gel ini zat aktif berdifusi keluar dari matriks.

Analisa data. Hasil perhitungan statistik analisa varian dua arah terhadap % amoksisilin yang terdisolusi pada jam 12 diantara granul F1, F2, F3, F4 dan F5 memberikan nilai sig 0,031 < 0,05. Hasil perhitungan statistik analisa varian dua arah terhadap hasil uji *wash off* selama 2 jam diantara granul F1, F2, F3, F4 dan F5 memberikan nilai sig 0,005 < 0,05. Sehingga terdapat perbedaan bermakna tiap formula.

SIMPULAN

Peningkatan konsentrasi natrium alginat dapat meningkatkan daya mukoadhesif granul amoksisilin pada mukosa lambung tikus tetapi kurang dapat menahan pelepasan obat, formula yang paling baik adalah formula 3 yang mengandung natrium alginat 580 mg dari rentang natrium alginat yang digunakan yaitu 560 – 620 mg.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hoffman A, Qadri BA. 2007. Gastro-Retentive System. Dalam: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology third edition volume 1. Hlm. 1850-9.
2. Sweetman, C.S. 2009. Martindale The Complete Drug Reference. 36th ed. Pharmaceutical Press. USA.
3. Sherwood L. 1996. Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem edisi 2, Terjemahan: Brahm U Pendit. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 560.
4. Lenaert V, Gurry R. 1999. Bioadhesive Drug Delivery System. Crc Pres, Boca Raton. Florida. Hlm. 43-63.
5. Rowe R, Sheskey P, Owen S. 2006. Handbook of Pharmaceutical Excipients 5th ed. Pharmaceutical Press. London. Hlm. 389-394, 656-7.
6. Lachman L, Lieberman HA Kanig JL. 1994. Teori dan praktek farmasi industri. Edisi III. Terjemahan: Suyatmi S. UI Press. Jakarta. Hlm. 643, 680, 690, 707
7. Widayanti A. 2011. Pengembangan Formula Sediaan Lepas Lambat Nifedipin Dengan Sistem Mukoadhesif. Dalam: Tesis. Hlm 35
8. Banakar UV.1992. Pharmaceutical Dissolution Testing. Marcell Dekker and Sons inc. New York. Hlm. 139-177
9. Deshpande A, Shah N, Rhodes C, Malick A. 1996. Controlled-Release Drug Delivery Systems for Prolonged Gastric Residence: An overview. Drug Dev. Ind. Pharm. Hlm. 531-9
10. Ririn, Attamimi. F., Nurlina, An Nur. S. 2013. Pengembangan Granul Gastromukoadhesif Amoksisilin Menggunakan Gum arab, Tragakan dan Xanthan gum serta uji pelepasan secara in vitro. Dalam: Majalah Farmasi dan Farmakologi, Vol 17, no.1. Hlm. 25-30
11. Departemen Kesehatan RI. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. 95-97, 488-489, 1083-4
12. Indrawati T, Agoes G, Yulinah E, Cahyati Y. 2005. Uji daya Lekat Mukoadesif In Vitro beberapa Eksipient Polimer Tunggal dan Kombinasinya Pada Lambung dan Usus Tikus. Dalam: Jurnal Matematika dan Sains Vol 10 No 2. Hlm. 45-51
13. Fudholi A. 2013. Disolusi dan pelepasan obat in vitro. Pustaka pelajar. Yogyakarta. Hlm. 27, 137-54.

Optimasi Formula Sediaan Krim *Sunflower* (*Helianthus annuus* L.) Oil

(Formula Optimization of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Oil Cream Formula)

EVA HUSEIN, AGATHA BUDI SUSIANA LESTARI*

Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma
Kampus III, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta.

Diterima 2 Januari 2018, Disetujui 22 Maret 2019

Abstrak: Minyak biji bunga matahari (*sunflower oil*) banyak digunakan dalam krim pelembap untuk menjaga kehalusan dan kelembapan kulit. Penggunaan emulgator yang tepat dapat membantu terbentuknya sediaan krim yang stabil. Penelitian ini bertujuan untuk mencari komposisi optimum antara Tween 80 dan Span 80 yang menghasilkan sediaan krim dengan sifat fisik dan stabilitas fisik yang baik ditinjau dari viskositas, daya sebar, dan pergeseran viskositas setelah 30 hari. Kemampuan krim dalam mempertahankan kelembapan kulit diuji dengan metode *Transepidermal Water Loss* (TEWL). Rancangan penelitian menggunakan *Simplex Lattice Design* 2 faktor 2 level. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari formula yang diuji, terdapat 3 formula yang memenuhi persyaratan untuk respon yang diuji, yaitu pada kombinasi Tween 80:Span 80 (6:4)%, (7:3)%, dan (8:2)%. Viskositas yang diperoleh berada dalam kisaran 143,3-153,3 dPas, daya sebar antara 5,0-5,3 cm, dan pergeseran viskositas antara 4,3-6,8%. Uji TEWL dilakukan terhadap formula optimum yang diperoleh, dan penurunan TEWL yang diperoleh berkisar antara 17,9-38,0%. Berdasarkan data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa *sunflower oil* dapat diformulasikan dalam sediaan krim menggunakan kombinasi Tween 80 dan Span 80 pada konsentrasi (6:4)%, (7:3)%, dan (8:2)% yang memenuhi persyaratan viskositas, daya sebar, dan pergeseran viskositas selama waktu penyimpanan 30 hari, dan terbukti mampu mempertahankan kelembapan kulit.

Kata kunci: *Sunflower oil*, krim, tween 80, span 80, *simplex lattice design*.

Abstract: Sunflower oil is one of the components of moisturizing cream that keeps the moisture of the skin. To produce a good quality cream, it is necessary to select appropriate emulsifying agent. This study aims to find the optimum composition between Tween 80 and Span 80 as an emulsifying agent in the preparation of sunflower oil cream, to meet physical properties and physical stability in terms of viscosity, spread ability and viscosity shift for 30 days. The ability of the cream to maintain skin moisture was tested using the *Transepidermal Water Loss* (TEWL) method. This study used a 22 experimental research design with the *Simplex Lattice Design*. The results showed there are 3 formulas of Tween 80 and Span 80 in proportion (6:4)%, (7:3)% and (8:2)% that fulfill the requirements with 143,3-153,3 dPas in viscosity, spread ability in range 5,0-5,3 cm, and viscosity shift between 4,3-6,8%. Based on TEWL test, the optimum formula obtained has a moisturizing effect with a TEWL value 17,9-38,0%. It conclude, sunflower oil could be formulated into moisturizing cream using combination of Tween 80 and Span 80 in proportion (6:4)%, (7:3)% and (8:2)% to fulfill the requirements for 30 days and could keep the skin moisture.

Keywords: Sunflower oil, cream, tween 80, span 80, *simplex lattice design*.

*Penulis korespondensi: Hp :081328190002
e-mail: a_budi@usd.ac.id

PENDAHULUAN

DALAM cuaca panas, paparan terhadap pendingin udara (AC) memang menyejukkan, namun jika terlalu lama dapat memicu hilangnya kelembapan kulit yang akhirnya menyebabkan kulit menjadi kering. Kulit yang kering sangat tidak nyaman, terasa kaku, dan mudah bersisik. Dalam hal ini, elemen alami kulit yang disebut dengan *natural moisturizing factors* (NMF) tidak lagi dapat menjaga kelembapan kulit dengan baik. Oleh karena itu, banyak orang yang memakai krim pelembap atau *moisturizer* untuk menjaga agar kulit tetap terlindungi dan terhidrasi dengan baik.

Salah satu bahan yang banyak digunakan dalam sediaan krim pelembap adalah *sunflower oil*, karena banyak mengandung vitamin E dan *essential fatty acids* (EFA) seperti asam linoleat, asam oleat, asam palmitat, dan asam stearat(1). Asam linoleat merupakan salah satu contoh lipid NMF yang terdapat di kulit yang berfungsi dalam menjaga hidrasi kulit, dengan demikian *sunflower oil* dapat menggantikan NMF dalam mempertahankan kelembapan kulit(2).

Pemilihan emulgator menjadi pertimbangan penting dalam pembuatan sediaan krim karena akan berperan dalam pembentukan emulsi yang baik dan sediaan krim yang stabil. Untuk mendapatkan emulgator yang dapat memberikan nilai *hydrophilic-lipophilic balance* (HLB) yang sesuai dengan tujuan pembuatan krim, biasanya digunakan emulgator dalam bentuk kombinasi, misalnya kombinasi antara *polysorbate* dan sorbitan esters umum digunakan bersamaan(3)

Dalam penelitian ini digunakan kombinasi antara Tween 80 dan Span 80. Tween 80 adalah *emulsifying agent* larut air dan Span 80 adalah *emulsifying agent* nonionik yang gugus lipofilnya lebih dominan sehingga kombinasi kedua surfaktan tersebut mampu mempengaruhi nilai HLB dari masing-masing

surfaktan secara tunggal pada perbandingan tertentu dan dapat mencapai rentang nilai HLB krim M/A yang diinginkan yaitu 8–13⁽⁴⁾. Selain itu, pertimbangan lain pemilihan kombinasi emulgator ini adalah tidak adanya interaksi kimia dengan *sunflower oil*⁽⁵⁾.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menghasilkan suatu kombinasi emulgator Tween 80 dan Span 80 yang dapat menghasilkan formula sediaan krim *sunflower oil* yang memenuhi persyaratan kualitas, ditinjau dari sifat fisik dan stabilitas fisik sediaan. Sifat fisik yang diuji meliputi viskositas dan daya sebar, sedangkan stabilitas fisik ditinjau dari pergeseran viskositas. Metode optimasi yang digunakan adalah *simplex lattice design*, dengan metode ini menentukan formula optimal dari campuran bahan, dalam desainnya jumlah total bagian komponen campuran dibuat tetap⁽⁶⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. *Sunflower oil* (kualitas farmasetis) diperoleh dari PT. Eteris Nusantara, *white petrolatum* (kualitas farmasetis), *white bees wax* (kualitas farmasetis), asam stearat (kualitas farmasetis), metil paraben (kualitas farmasetis), propilen glikol (kualitas farmasetis), Tween 80 (kualitas farmasetis), Span 80 (kualitas farmasetis), dan *aqua destilata*.

METODE. **Pembuatan Krim *Sunflower Oil*.** Formula sediaan krim *sunflower oil* tercantum dalam Tabel 1. Diawali dengan pembuatan fase minyak dan fase air secara terpisah. Fase minyak terdiri dari vaselin putih, cera alba, dan asam stearat, dilelehkan pada suhu 65-70 °C, kemudian ditambahkan Span 80 dan *sunflower oil* pada suhu yang sama sambil diaduk sampai homogen. Fase air terdiri dari propilen glikol, metil paraben, dan Tween 80, dicampur dan dipanaskan pada suhu 65-70 °C. Fase minyak dicampurkan dengan fase air menggunakan mixer dengan kecepatan 600 rpm. Setelah semuanya

Tabel 1. Formula sediaan krim *sunflower oil*.

Bahan (%)	Formula				
	1	2	3	4	5
<i>Sunflower oil</i>	5	5	5	5	5
Vaselin putih	52	52	52	52	52
Cera Alba	3	3	3	3	3
Asam sterat	5	5	5	5	5
Tween 80	4	5	6	7	8
Span 80	6	5	4	3	2
Metil paraben	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Propilen glikol	30	30	30	30	30
<i>Aqua destilata</i>	<i>ad 100</i>	<i>ad 100</i>	<i>ad 100</i>	<i>ad 100</i>	<i>ad 100</i>

tercampur ditambahkan aqua destilata dan diaduk selama 8 menit sambil didinginkan.

Pengujian Daya Sebar Krim *Sunflower Oil*. Ditimbang 1 gram krim *sunflower oil*, diletakkan tepat di tengah kaca bulat berskala. Kaca bulat tanpa skala serta pemberat 125 g diletakkan di atasnya dan dibiarkan secara 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya. Pengujian daya sebar dilakukan dalam rentang waktu 24-48 jam setelah krim *sunflower oil* selesai dibuat dan setelah penyimpanan selama satu bulan.

Pengujian Pergeseran Viskositas Krim *Sunflower Oil*. Dilakukan pengukuran viskositas setelah sediaan krim disimpan selama satu bulan pada suhu kamar.

Pengujian *Transepidermal Water Loss* (TEWL). Enam *volunteer* yang sehat (3 laki-laki dan 3 perempuan) dengan rentang usia 18 sampai 25 tahun yang telah menandatangani *informed consent* dipersiapkan dengan cara tidak memakai produk *skin care* apapun selama 24 jam dan selama 4 jam tidak mandi sebelum eksperimen dimulai. *Pre-treatment* dilakukan dengan membasuh lengan *volunteer* dengan air hangat, dikeringkan dengan hati-hati dan dibiarkan 30 menit. Setelah itu, area kulit pada lengan atas dalam diukur kadar air dalam kulit sebelum dioleskan krim.

Oleskan krim *sunflower oil* dalam area yang telah diukur kadar airnya dan dibiarkan selama 30 menit, setelah itu diukur kembali dengan tewameter. Hasil pengukuran kemudian dihitung nilai rata-ratanya pada tiap kelompok berdasarkan jenis kelamin. Nilai rata-rata kemudian dibandingkan antara sebelum pemakaian dan sesudah pemakaian produk. Apabila penurunan nilai rata-rata TEWL antara sebelum dan sesudah *treatment* $\geq 8\%$, maka ada perbedaan nilai *moisturizer* kulit karena perlakuan sediaan yang artinya sediaan mampu meningkatkan kelembapan kulit⁽⁷⁾.

Analisis Hasil. Hasil perolehan respon dilakukan pendekatan dengan persamaan *simplex lattice design* yaitu $Y = a(X1) + b(X2) + ab(X1)(X2)$. Persamaan *simplex* selanjutnya divalidasi dengan cara menghitung perolehan regresi dari persamaan yang telah diperoleh menggunakan metode statistik F hitung dengan taraf kepercayaan 95%. Formula dengan komposisi campuran optimum diuji efikasinya secara *in vivo* pada kulit *volunteers* dengan uji TEWL

menggunakan alat tewameter[®] TM-300. Perolehan nilai TEWL sebelum dan sesudah *treatment* dihitung nilai rata-ratanya dalam tiap kelompok kemudian dibandingkan. Bila peningkatan kelembapan pada kulit setelah pemberian krim *sunflower oil* $\geq 8\%$ artinya krim *sunflower oil* dapat memberikan efek *moisturizer*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Krim *Sunflower Oil*. Pembuatan formula dimodifikasi dari formula acuan⁽⁸⁾ seperti yang tertera pada Tabel 1. Hasil uji organoleptis, kelima formula berwarna putih dan memiliki bau khas. Hasil uji tipe krim dengan *miscibility test*, kelima formula larut dalam air. Kelima formula memiliki pH 5, ketika diuji dengan menggunakan kertas pH universal.

Hasil Pengujian Viskositas Krim *Sunflower Oil*. Tabel 2 menunjukkan data viskositas dan daya sebar sediaan krim *sunflower oil* yang diperoleh 24-48 jam setelah pembuatan. Viskositas merupakan tahanan suatu cairan untuk mengalir, dimana semakin tinggi nilai viskositas maka semakin besar ketahanan cairan untuk mengalir⁽⁹⁾.

Dalam penelitian ini, kriteria viskositas sediaan semisolid yang diterima adalah 50 sampai 200 d.Pa.s⁽¹⁰⁾. Berdasarkan data yang diperoleh, pengaruh Span 80 lebih besar terhadap peningkatan respon viskositas dibandingkan Tween 80. Data menunjukkan bahwa semakin tinggi proporsi Span 80 dalam sistem emulgator, respon viskositas cenderung meningkat. Ketika proporsi Span 80 semakin tinggi, maka droplet fase minyak akan semakin stabil, dan kemungkinan terjadinya penggabungan antar droplet dapat diminimalkan. Droplet yang stabil dalam emulsi akan berpengaruh terhadap peningkatan viskositas sediaan krim.

Hasil Pengujian Daya Sebar Krim *Sunflower Oil*. Uji daya sebar dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai kemampuan pemerataan dan penyebaran krim *sunflower oil* saat dioleskan pada kulit. Semakin besar nilai daya sebar maka sediaan makin mudah diaplikasikan ke kulit, sehingga lebih banyak luas permukaan yang kontak dengan kulit. Nilai daya sebar krim *sunflower oil* yang diinginkan adalah 5-7 cm karena termasuk dalam sediaan *semifluid*⁽¹¹⁾. Pemilihan kategori *semifluid* bertujuan

	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5
Viskositas (dPas)	160 ± 0	160 ± 0	153,33 ± 5,77	153,33 ± 5,77	143,33 ± 5,77
Daya sebar (cm)	4,23 ± 0,25	4,57 ± 0,25	5,03 ± 0,06	5,23 ± 0,21	5,33 ± 0,06

Tabel 3. Data pergeseran viskositas krim *sunflower oil*.

Sifat fisik	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5
Pergeseran viskositas (%)	0 ± 0	4,17 ± 3,61	4,31 ± 3,73	6,53 ± 0,24	6,83 ± 6,67

agar sediaan krim *sunflower oil* memiliki penyebaran yang tinggi dan mudah untuk diaplikasikan di kulit. Hasil pengamatan daya sebar krim *sunflower oil* pada Tabel 2 menunjukkan pada formula 3, 4, dan 5 yang memenuhi kriteria daya sebar yang diinginkan.

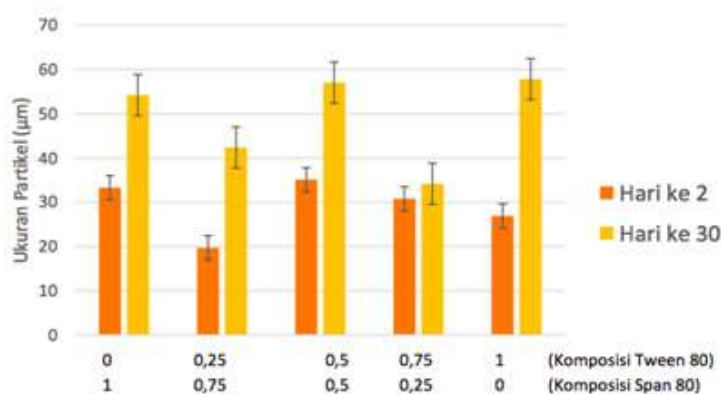
Hasil Pengujian Pergeseran Viskositas Krim *Sunflower Oil*. Pergeseran viskositas pada sediaan krim diamati setelah krim disimpan selama 30 hari pada kondisi suhu kamar. Uji ini dilakukan untuk memprediksi stabilitas sediaan krim yang dihasilkan selama masa penyimpanan. Berdasarkan data pada Tabel 3, terlihat adanya pergeseran viskositas pada setiap formula, dan pergeseran viskositas terbesar terjadi pada formula 5. Terjadinya pergeseran viskositas ini juga diiringi dengan perubahan ukuran partikel droplet, dimana ukuran droplet menjadi lebih besar (Gambar 1).

Adanya peningkatan ukuran droplet menunjukkan bahwa emulgator yang ada tidak lagi mampu menjaga stabilitas droplet yang ada, karena kohesivitas fase minyak yang lebih kuat, sehingga droplet-droplet cenderung untuk bergabung membentuk droplet yang lebih besar (koalesen). Semakin besar ukuran droplet, rigiditas dan ketahanan sistem akan semakin kecil, dan kecenderungan yang mengarah ke pemisahan

fase akan semakin besar. Berdasarkan data pada Tabel 3, pergeseran viskositas akan semakin tinggi ketika proporsi Span 80 semakin kecil dalam campuran emulgator. Hal ini menunjukkan ketika semakin kecil proporsi Span 80, maka stabilitas droplet yang terbentuk akan semakin kecil, dan kemungkinan terjadinya penggabungan droplet akan semakin besar. Ketika droplet semakin besar, terjadi pergeseran viskositas yang mengarah pada penurunan viskositas sistem.

Penetapan Formula Optimum Krim *Sunflower Oil*. Secara umum, kombinasi antara Tween 80 dan Span 80 sebagai emulgator akan menghasilkan sistem emulsi yang baik, dimana fungsi Tween 80 dan Span 80 akan saling melengkapi. Dalam penelitian ini, formula optimum sediaan krim *sunflower oil* didasarkan pada sifat fisik yang dihasilkan, meliputi viskositas dan daya sebar, serta stabilitas fisik yang diwakili oleh parameter pergeseran viskositas.

Tabel 4 menunjukkan persamaan matematika yang dihasilkan untuk masing-masing respon yang diuji. Pada respon viskositas, baik Tween 80 maupun Span 80 cenderung akan meningkatkan viskositas sediaan krim, namun koefisien Span 80 sedikit lebih besar dibandingkan Tween 80, sehingga dapat diprediksi

Gambar 1. Diagram komposisi emulgator vs ukuran partikel droplet krim *sunflower oil*.Tabel 4. Persamaan matematis untuk masing-masing respon sediaan krim *sunflower oil*.

Respon	Persamaan matematika
Viskositas	$Y = 143,33 (A) + 160 (B) + 6,67 (A) (B)$
Daya sebar	$Y = 5,33 (A) + 4,23 (B) + (A) (B)$
Pergeseran viskositas	$Y = 6,83 (A) + 3,57 (A) (B)$

Keterangan : A = proporsi Tween 80, B = proporsi Span 80

Tabel 5. Data pengujian TEWL

No responden	Jenis Kelamin	TEWL (g/jam.m ²)		Penurunan TEWL (%)	Significant p
		Sebelum	Sesudah		
1	Perempuan	11,81	9,69	17,95	p<0,05
2		11,64	9,16	21,31	
3		18	12,92	28,22	
4		18,1	11,04	39,01	
5	Laki-laki	31,44	20,73	34,06	p<0,05
6		20,25	12,54	38,07	

bahwa Span 80 berpengaruh terhadap viskositas lebih besar dibandingkan Tween 80. Hal ini dapat terjadi karena bagian hidrofobik dari Span 80 mampu mempertahankan stabilitas droplet fase minyak dengan baik, dimana droplet yang stabil akan meningkatkan ketahanan dari sistem emulsi dalam krim.

Untuk respon daya sebar, koefisien Tween 80 sedikit lebih besar dibandingkan Span 80 sehingga dapat diprediksi bahwa dalam formula sediaan krim ini Tween 80 berpengaruh terhadap peningkatan daya sebar sediaan krim lebih besar dibandingkan Span 80. Semakin besar daya sebar krim menunjukkan bahwa tahanan alir (viskositas) dari sediaan krim semakin kecil.

Terdapat suatu kondisi dimana droplet-droplet yang terbentuk dalam krim tidak lagi stabil, yang akan meningkatkan kecenderungan untuk bergabung dengan droplet yang lain. Dalam hal ini, dimungkinkan rantai polioksietilen Tween 80 yang mengarah ke bagian fase air tidak mampu lagi menjadi halangan sterik dan menahan desakan koalesen droplet, sehingga terjadi penurunan viskositas sistem yang mengarah pada peningkatan daya sebar. Pada respon pergeseran viskositas, koefisien Tween 80 jauh lebih besar dibanding Span 80 sehingga diprediksi Tween 80 lebih berpengaruh terhadap pergeseran viskositas dibanding Span 80.

Setelah dianalisis, ketiga persamaan *Simplex Lattice Design* untuk ketiga respon tersebut dinyatakan regresi, sehingga dapat dikatakan bahwa persamaan tersebut dapat digunakan untuk memprediksi respon pada berbagai perbandingan komposisi Tween 80 dan Span 80.

Berdasarkan profil kurva komposisi emulgator terhadap respon yang diuji, terlihat bahwa semakin tinggi Tween 80 cenderung akan menurunkan respon viskositas, namun di sisi lain akan meningkatkan respon daya sebar dan pergeseran viskositas. Kriteria formula optimum penelitian ini adalah sediaan yang memiliki respon sifat fisik dan stabilitas fisik yang baik dengan kriteria viskositas (50-200 d.Pa.s), daya sebar (5-7 cm), dan pergeseran viskositas

(<10%). Berdasarkan hasil analisis data, diperoleh area komposisi optimum antara kombinasi emulgator Tween 80 dan Span 80 yang dapat menghasilkan formula sediaan krim *sunflower oil* yang dapat memenuhi kriteria optimum.

Hasil Pengujian *Transepidermal Water Loss* (TEWL). *Transdepidermal Water Lost* (TEWL) adalah sebuah metode dalam dermatologi untuk memperkirakan *skin barrier* secara in vivo(7), dalam penelitian ini digunakan formula 3 yang memenuhi kriteria formula optimum. Berdasarkan data pada Tabel 5, ada perbedaan yang signifikan antara TEWL sebelum pemakaian krim *sunflower oil* dan TEWL setelah pemakaian krim *sunflower oil*, artinya terjadi penurunan TEWL $\geq 8\%$ baik pada kelompok perempuan maupun laki-laki. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa krim *sunflower oil* memiliki efek pelembap atau *moisturizer*.

SIMPULAN

Diperoleh suatu kombinasi emulgator Tween 80 dan Span 80, dalam penelitian ini ditunjukkan pada perbandingan (6:4)%, (7:3)% dan (8:2)% yang dapat menghasilkan formula sediaan krim *sunflower oil* yang memenuhi persyaratan kualitas, ditinjau dari sifat fisik dan stabilitas fisik sediaan. dan memiliki efek sebagai pelembap, dibuktikan dengan nilai TEWL $\geq 8\%$ (p<0,05).

DAFTAR PUSTAKA

1. Cooke A, Cork MJ, Victor S, Campbell M, Danby S, Chittock J, Lavender T. Olive oil, sunflower oil or no oil for baby dry skin or massage: a pilot, assessor-blinded, randomized controlled trial (the oil in baby skincare [observe study]). *Acta Derm Venereol*. 2016. 96:323–30.
2. Eichenfield LF, McCollum A, and Msika P. The benefits of sunflower oleodistillate (SOD) in pediatric dermatology. *Pediatric Dermatology*. 2009. 26(6):669-75
3. Rowe RC, Sheskey PJ, and Quinn ME. *Handbook of*

- pharmaceutical excipients. Pharmaceutical Press. 2009.
4. Kim, Cherng-ju. *Advanced pharmaceuticals: physicochemical principles*. CRC Press LLC, Florida. 2005. 214-35.
 5. Gupta V, Nagpal M, Aggarwal G, Kaur R, Singh S, Behl T, Jain UK. Formulation, development, and evaluation of non-ionic surfactant based organogel for transdermal delivery of acyclovir. *International Journal of Innovative Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014. 2(7):1297- 310.
 6. Bolton S. and Bon C. *Pharmaceutical statistic practical and clinical applications*, 4th ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 2004. 523-24.
 7. Patzelt A, Lademann J, Richter H, Darvin ME, Schanzer S, Thiede G, Sterry W, Vergou T, Hauser M. In vivo investigations on the penetration of various oils and their influence on the skin barrier. *Skin Research and Technology*. 2011.18:364–69.
 8. Patel RP, and Kamani R. Formulation optimization and evaluation of mometasone furoate cream. *Journal of Pharmacy Research*. 2009. 2(10):1565-69.
 9. Sinko JP. *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical science: physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical science*. 6thed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2011. 767, 800, 816-18.
 10. Xenograf OC, Wisudyaningsih B, Muslichah S, Hidayat MA. Formulasi dan penentuan *stress testing* sediaan krim m/a dan a/m ekstrak etanol edamame (*Glycine max*). *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2015. 3(3):426.
 11. Garg A, Aggarwal D, Garg S, and Singla AK. Spreading of semisolid formulations : an update. *Pharmaceutical Technology*. 2002. 84-105.

Efek Antidiare Ekstrak Air Bunga Nagasari (*Mesua Ferrea L.*) Terhadap Mencit BALB/c yang Diinduksi Minyak Jarak

(Antidiarrhoeal Activity of Water Extract of The Nagasari Flowers (*Mesua ferrea L.*) in BALB/c Mice Induced by Castor Oil)

PUTU MONIK ANANTA PUSPITARINI^{*}, IMAN SURYA PRATAMA¹, BAMBANG FAJAR
SURYADI²

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

² Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Mataram

Diterima 2 Januari 2018, Disetujui 22 Maret 2019

Abstrak: Nagasari (*Mesua ferrea L.*) secara empiris telah digunakan untuk penanganan diare di Provinsi Nusa Tenggara Barat. Namun, keamanan dan kemanjuran dari nagasari belum dibuktikan secara ilmiah dalam model hewan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antidiare ekstrak air bunga nagasari pada mencit BALB/c yang diinduksi minyak jarak. Ekstrak air bunga nagasari (0,4% (b/v); 0,8% (b/v); dan 1,6% (b/v)) diberikan pada 3 kelompok mencit, sedangkan kelompok kontrol negatif diberikan CMC-Na 1% dan kelompok kontrol positif diberikan loperamide 0,7 mg/kgBB secara peroral satu kali sehari selama satu hari dan dilakukan pengamatan pada frekuensi dan konsistensi dari feses. Skrining fitokimia bunga nagasari mengandung flavonoid, saponin, dan fenolik. Ekstrak air bunga nagasari pada konsentrasi 1,6% menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap minyak jarak sebanding dengan kontrol positif (indeks diare 0,083; $p > 0,05$). Oleh karena itu, penelitian ini dapat mendukung penggunaan tradisional ekstrak air bunga nagasari sebagai antidiare.

Kata kunci: minyak jarak, indeks diare, nagasari.

Abstract: Nagasari (*Mesua ferrea L.*) is empirically used for management of diarrhea in West Nusa Tenggara Province. However, the safety and efficacy of nagasari have not been scientifically validated in an animal model. This study was aimed to evaluate the antidiarrheal activity of water extract of the nagasari flowers in BALB/c mice induced by castor oil. The water extract of nagasari flowers (0,4% (w/v); 0,8% (w/v); and 1,6% (w/v)) was administered orally to 3 groups of mice, whereas negative controls received CMC-Na 1% and positive controls received loperamide 0,7 mg/kgBW orally once daily for 1 day. The frequency and consistency of feces were observed. The phytochemical screening of nagasari flowers contains flavonoid, saponin, and phenolic. Water extract of nagasari flowers at concentration 1,6% showed significant inhibitory activity against castor oil comparable with positive controls (diarrhea index 0,083; $p > 0,05$). Therefore, this study provides scientific support for the acclaimed traditional use of water extract of nagasari flowers for the treatment of diarrheal diseases.

Keywords: castor oil, diarrhea index, nagasari.

*Penulis korespondensi, HP 087759785540
Email: monikananta1@gmail.com

PENDAHULUAN

DIARE merupakan keadaan buang air besar (BAB) lebih dari tiga kali dengan konsistensi encer dalam waktu 24 jam(1). Berdasarkan Profil Kesehatan di Provinsi NTB tahun 2015/2017, cakupan penderita diare belum mengalami penurunan secara signifikan yaitu sebanyak 158.993 dan 175.361 kasus(2,3).

Berdasarkan WHO (1990) menunjukkan bahwa obat diare memiliki keterbatasan seperti efek samping. Selain itu, studi pola pengobatan diare menunjukkan toksisitas yang luas dan adanya penyalahgunaan di masyarakat(4). Hal ini mendorong pengembangan alternatif antidiare herbal karena bersifat multi-target dan memiliki kandungan kimia yang kompleks.

Nagasari (*Mesua ferrea L.*) merupakan salah satu tumbuhan tradisional yang digunakan sebagai antidiare. Hal ini tertulis dalam Lontar Dharma Usadha Kuranta Bolong, menyatakan bahwa bagian tumbuhan nagasari dapat digunakan sebagai obat mencret(5). Bunga nagasari diilustrasikan pada gambar 1.

Secara *in vitro*, telah dilakukan penelitian yang menyatakan bahwa ekstrak metanol seluruh bagian bunga nagasari dosis 10 µg/mL, 50 µg/mL dan >200 µg/mL menunjukkan daya hambat pada *Escherichia coli* melalui nilai KHM yaitu 2, 6 dan 14. Senyawa flavonoid yaitu *mesuaferon-A* dan *mesuaferon-B* diduga berperan dalam efek antibakteri(6).

Kajian ilmiah ekstrak air bunga nagasari sebagai antidiare secara *in vivo* masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antidiare ekstrak air bunga nagasari pada mencit BALB/c yang diinduksi minyak jarak.

METODE

BAHAN. Bahan uji yang digunakan yaitu akuades, serbuk CMC-Na, kertas saring, mencit putih galur Balb/c dengan bobot 25-40 gram, minyak jarak, pakan mencit, sekam, simplisia bunga nagasari



Gambar 1. Bunga Nagasari

(*Mesua ferrea L.*) dan Loperamid 2 mg.

METODE. Persiapan Tumbuhan Dan Determinasi. Bunga nagasari diperoleh di daerah Lingsar, Kabupaten Lombok Barat pada bulan Januari 2018. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bandungense SITH, Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Penyiapan Simplisia Dan Pembuatan Ekstrak. Bunga nagasari dengan tangkai dicuci, dikeringkan, dihancurkan dengan blender kemudian diserbukkan hingga diperoleh serbuk dengan ukuran 35 mesh. Serbuk direbus dengan konsentrasi 0,8% (b/v) selama 15 menit dan disaring.

Uji Fitokimia. Uji fitokimia dilakukan pada senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin berdasarkan prosedur pada jurnal Gul dkk, 2017(7).

Uji Antidiare Dari Ekstrak Air Bunga Nagasari. Penelitian ini dilakukan berdasarkan persetujuan komite etik No. 91/UN18.8/ETIK/2018. Mencit putih galur Balb/c diadaptasi dan dibagi menjadi lima kelompok secara acak, meliputi kontrol negatif (larutan CMC-Na 1%); kontrol positif (Loperamid 0,7 mg/kgBB); ekstrak uji I (0,4 % (b/v)); ekstrak uji II (0,8 % (b/v)); dan ekstrak uji III (1,6 % (b/v)). Setelah 30 menit, mencit diberikan 1 mL minyak jarak. Pengamatan feses dilakukan tiap 30 menit selama 6 jam. Secara kualitatif ditentukan dari keberadaan darah dan lendir pada feses. Secara kuantitatif diukur menggunakan tiga indeks yaitu *Loose Stool Incidence Rate* (LSIR), *Average Loose Stool Grade* (ALSG) dan *Diarrhea Index* (DI) (8,9,10). LSIR adalah rasio jumlah feses yang cair dengan total jumlah feses defekasi. LSG menggambarkan derajat feses yang cair dinilai berdasarkan diameter (cm) feses pada kertas saring. LSG diklasifikasikan menjadi empat tingkat sesuai dengan diameter feses yang keluar : derajat 1 (< 1 cm); derajat 2 (1-1,9 cm); derajat 3 (2-3 cm); dan derajat 4 (> 3 cm). ALSG adalah rata-rata dengan membagi LSG dengan jumlah feses yang cair. DI adalah perkalian antara LSIR dan ALSG.

Analisis Data. Normalitas data diuji dengan uji *Shapiro-Wilk* dan homogenitas data diuji dengan *ANOVA*. Uji statistik non-parametrik *Kruskal Wallis* untuk menentukan perbedaan bermakna antara kelompok variabel dependen dan independen ($p < 0,05$) dan uji lanjut *Mann Whitney* untuk menentukan perbedaan bermakna antara dua mean populasi yang berasal dari populasi yang sama ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia menunjukkan ekstrak air bunga nagasari mengandung flavonoid, saponin dan senyawa fenolat yang ditunjukkan pada tabel 1. Hal ini sesuai dengan pengujian sebelumnya pada ekstrak metanol bunga nagasari yang mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin dan fenolat (11).

Efek antidiare ekstrak air bunga nagasari secara in vivo ditentukan melalui tiga parameter yaitu ALSG, LSIR dan DI.

LSIR pada kontrol positif dan kelompok ekstrak menunjukkan penurunan frekuensi diare yang berbeda bermakna dengan kontrol negatif. Peningkatan dosis dari ekstrak menyebabkan penurunan frekuensi diare. Ekstrak konsentrasi 1,6% menunjukkan efek yang sebanding terhadap kontrol positif ($p > 0,05$).

ALSG menggambarkan tingkat konsistensi feses yang ditinjau dari ukuran diameter feses pada kertas saring. Kontrol positif dan kelompok ekstrak memiliki kemampuan mengurangi ukuran diameter feses yang berbeda bermakna dengan kontrol negatif. Ekstrak konsentrasi 1,6% menunjukkan pengurangan ukuran diameter feses tertinggi dibandingkan dengan kelompok ekstrak lain dan efeknya sebanding terhadap kontrol positif ($p > 0,05$).

Kontrol positif dan kelompok ekstrak memiliki penurunan indeks diare yang berbeda bermakna dengan kontrol negatif. Ekstrak konsentrasi 1,6%

menunjukkan penurunan indeks diare tertinggi dibandingkan dengan kelompok ekstrak lain dan efeknya sebanding terhadap kontrol positif ($p > 0,05$). Berdasarkan ketiga parameter tersebut menunjukkan bahwa efektivitas tertinggi ekstrak yaitu pada konsentrasi 1,6% sebanding dengan efek loperamid. Diduga kandungan senyawa metabolit yaitu flavonoid berperan dalam menurunkan ketiga parameter. Asam risinoleat yang dilepaskan oleh minyak jarak mengaktifkan sel otot polos usus dan uterus melalui reseptor prostanoid EP3 sebagai target untuk menginduksi diare (12). Flavonoid berperan menghambat pelepasan prostanoid EP3 sehingga motilitas usus dan sekresi hidroelektrolit yang berlebih dapat dihambat (13).

Ekstrak air bunga nagasari konsentrasi 1,6% mengandung senyawa flavonoid sehingga dapat menghambat diare. Data toksisitas pada ekstrak etanol bunga nagasari menunjukkan dosis 500 – 2000 mg/kgBB tidak menimbulkan tanda toksik pada mencit (14). Pada penelitian ini tidak ditemukan tanda toksisitas dan mortalitas pada mencit.

SIMPULAN

Ekstrak air bunga nagasari konsentrasi 1,6% memiliki efek antidiare paling efektif ditunjukkan dengan penurunan indeks diare yang paling tinggi.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan metode transit intestinal untuk memperkuat efek antidiare dari ekstrak air bunga nagasari

Tabel 1. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Air Bunga Nagasari

Kandungan	Hasil
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Fenolat	+
Saponin	+

Tabel 2. Nilai LSIR, ALSG, dan DI

Kelompok	LSIR	ALSG	DI
Ekstrak 0,4%	0,603 + 0,025	1,9 + 0,519	1,053 + 0,253
Ekstrak 0,8%	0,2 + 0,173	1 + 0	0,2 + 0,173
Ekstrak 1,6%	0,083 + 0,144*	0,33 + 0,577*	0,083 + 0,144 *
Kontrol positif	0 + 0	0 + 0	0 + 0
Kontrol negatif	0,88 + 0,036	1,553 + 0,254	1,357 + 834,963

*) Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol positif (Asymp. Sig. > 0,05%).

DAFTAR PUSTAKA

flower extract. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, 2012. 3 (3): 1507-08.

1. Tripathi KD. *Essentials of medical pharmacology*. Edisi ke-7, India : Jaypee Brothers Medical Publishers. 2013. p. 677.
2. Dinas Kesehatan Provinsi NTB. *Profil Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Barat*. NTB : Dinas Kesehatan Provinsi NTB. 2015.
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Data dan Informasi Kesehatan Indonesia 2017*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018.
4. World Health Organization. *The rational use of drugs in the management of acute diarrhoea in children*. Geneva : World Health Organization. 1990.
5. Listiawati NP, Juniawan IBH, Anom AAIA, Sudarsana IWG, and Wibawa IG JS. *Dharma usadha kuranta bolong klimosadha Sang Hyang Klimosadha*. Diterjemahkan oleh Listiawati NP, Juniawan IBH, Anom AAIA, Sudarsana IWG, and Wibawa IG JS. Mataram : STAHN Gde Pudja Mataram. 2016.
6. Mazumder R, Dasridar SG, Basu SP, Mazumder A, and Singh SK. Antibacterial potentiality of *Mesua ferrea* Linn. flowers. *Phytotherapy Research*. 2004. 18 : 824-26.
7. Gul R, Jan S. U, Faridullah S, Sherani S, and Jahan N. Preliminary phytochemical screening, quantitative analysis of alkaloids, and antioxidant activity of crude plant extracts from *Ephedra intermedia* Indigenous to Balochistan. *The Scientific World Journal*. 2017. 2017 : 1-7.
8. Hui H, Chen M, Li G, Feng H, et al. Andrographolide attenuates senna- and castor oil-induced diarrhea in mice. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2013. 32(8): 1113-7.
9. Han X, Pang Y, Liu S, Tan Z, Tang S, Zhou C, et al. Antidiarrhea and antioxidant activities of honokiol extract from *Magnoliae officinalis* cortex in mice. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014. 13 (10): 1643-51.
10. Yu J, Zhang Y, Song X, Yang Y, Jia R, Chen X, et al. Effect of modified *Pulsatilla* powder on enterotoxigenic *Escherichia coli* O101-induced diarrhea in mice. *Hindawi*. 2017. 2017: 11.
11. Sahu AN, Hemalatha S, and Sairam K. Quality control studies of *Mesua ferrea* Linn. flowers. *International Journal of Herbal Medicine*. 2013. 1 (2):124-30.
12. Tunaru S, Althoff TF, Nusing RM, Diener M, and Offermanns S. Castor oil induces laxation and uterus contraction via ricinoleic acid activating prostaglandin EP3 receptors. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 2012. 109 (23): 9179-84.
13. Maniyar Y, Bhixavatimath P, and Agashikar NV. Antidiarrheal activity of flower of *Ixora coccinea* Linn. in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 2010. 1 (4): 287-91.
14. Tiwari PK, Irchhaiya R, and Jain SK. Evaluation of anticonvulsant activity of *Mesua ferrea* Linn. ethanolic

Diabetic Wound Healing Biosurfactants Dialkyl Alginate Cream on TNF- α TGF- β Expression, Reepithelization, and Collagenization

(Penyembuhan Luka Diabetes Krim Biosurfaktan Dialkil Alginat pada Ekspresi TNF- α TGF- β , Reepitelisasi, dan Kolagenisasi)

CUT RAIHANAH, NURUL MAHYANI, KINTOKO*

Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

Submitted 16 January 2019, Accepted 26 March 2019

Abstract: Diabetic wound healing is delayed by many factors, including high TNF- α expression and low TGF- β expression which can affect the formation of new epithelial tissue and collagen as the main goal of the wound healing process. One of the diabetic wound healing agent is biosurfactant dialkyl alginate where so far its use in cream form for diabetic wound has never been reported. This study aimed to determine TNF- α , TGF- β , reepithelization and the collagenization of biosurfactant dialkyl alginate cream in diabetic biopsy wounds in STZ-induced rat. Biosurfactant dialkyl alginate was made in cream form and applied to biopsy wounds on the backs of rat twice a day for 9 days. Observation of TNF- α and TGF- β expression were performed by immunohistochemical staining, while epithelial and collagen with staining HE and Mallory. The results showed that the biosurfactant dialkyl alginate cream had an activity to decrease TNF- α expression, increase TGF- β expression and reepithelization but did not have any significant activity on collagenization. These results suggest that the biosurfactant dialkyl alginate cream can accelerate the healing of diabetic wound.

Keywords: Diabetic wound healing, biosurfactant dialkyl alginate cream, TNF- α and TGF- β expression, reepithelization, collagenization.

Abstrak: Penyembuhan luka diabetes tertunda oleh banyak faktor, diantaranya ekspresi TNF- α yang tinggi dan rendahnya ekspresi TGF- β yang dapat mempengaruhi pembentukan jaringan epitel baru dan kolagen sebagai tujuan utama dari proses penyembuhan luka. Salah satu agen penyembuhan luka diabetes adalah biosurfaktan dialkil alginat dimana sejauh ini penggunaannya dalam bentuk krim untuk luka diabetes belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan TNF- α , TGF- β , reepitelisasi dan kolagenisasi dari krim biosurfaktan dialkil alginat pada luka biopsi diabetes pada tikus yang diinduksi STZ. Biosurfaktan dialkil alginat dibuat dalam bentuk krim dan dioleskan dua kali sehari selama 9 hari pada luka biopsi di punggung tikus. Pengamatan ekspresi TNF- α dan TGF- β dilakukan dengan pewarnaan imunohistokimia, sedangkan epitel dan kolagen dengan pewarnaan HE dan Mallory. Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim biosurfaktan dialkil alginat memiliki aktivitas menurunkan ekspresi TNF- α , meningkatkan ekspresi TGF- β dan reepitelisasi tetapi tidak memiliki aktivitas yang signifikan pada kolagenisasi. Hasil ini menunjukkan bahwa krim biosurfaktan dialkil alginat dapat mempercepat penyembuhan luka diabetes.

Kata kunci: Penyembuhan luka diabetes, krim biosurfaktan dialkil alginat, ekspresi TNF- α dan TGF- β , reepitelisasi, kolagenisasi.

*Correspondence aauthor hp. 082220709977
Email: kkintoko77@gmail.com

INTRODUCTION

WORLD Health Organization (WHO) defines diabetic foot ulcer as infection, destruction of internal tissue linked with nerve and various disorders of peripheral vascular disease in the lower extremities⁽¹⁾. Major problem of patients with diabetic foot injuries is related to the failure of wound healing⁽²⁾. Diabetes Mellitus dominates 60% of the total amputation; while, after 1-3 years, 30% -50% of patients who have experienced an amputation will have it again on another foot⁽³⁾. There are several factors associated with delayed healing of diabetic foot wounds such as the reducing fibroblast migration, increasing apoptosis, decreasing keratinocytes, proinflammatory cytokine production and prolonged inflammation. The activation of macrophages is changed at the delay of wound healing. Macrophages are stimulated to increase the production of proinflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α , and IFN- γ by high blood sugar levels both in vivo and in vitro. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) is one of the potent pro-inflammatory cytokines⁽²⁾. In the cases of diabetic ulcer, TNF- α expression have been observed triple higher than non diabetic wound rats. The increasing TNF- α expression is associated with the inhibition of cell migration, failure fibroblast proliferation, triggered fibroblast apoptosis, and inhibition of angiogenesis resulting in the failure of diabetic wound healing⁽²⁾.

TGF- β is one of the most important factors in the wound healing process for playing a role in signaling for inflammation, angiogenesis, reepithelization, fibroblast migration, granulation tissue formation and homeostatic caution^(4,5). But its expression decreases in diabetic ulcer affecting the damage of wound healing process⁽³⁾. It is known that TNF- α expression often inhibits TGF- β activity. The increasing expression of TGF- β and inhibiting TNF- α expression can also be a new alternative therapy in wound healing diabetes⁽⁶⁾. Impaired diabetic wound healing is also caused by chronic inflammation that is characterized with the decreased inflammatory cell at the early stages and the increase of polymorphonuclear neutrophil (PMN) at the final healing stages⁽²⁾. In contrast, acute inflammation plays an important role in the wound healing process in which neutrophils are released into the wound area to remove bacterial contamination. The faster the bacteria is removed from the wound, the faster the process of reepithelization and collagenization for tissue repair⁽⁷⁾ as the main goal of the wound healing process⁽⁸⁾. Reepithelization is characterized by the replication and migration of epithelial cells on the edge of the skin⁽⁹⁾; while,

collagenization is the process in which collagen is synthesized by fibroblast cells released into the wound area by fibronectin in the inflammatory phase⁽¹⁰⁾.

One of the diabetic wound healing agents is the biosurfactant dialkyl alginate-a carbohydrate-based biosurfactant (glycolipid) resulted by a reaction between carbohydrate (alginate) and fatty alcohol (stearic acid and isopropyl alcohol). Biosurfactants have activity against biofilms in chronic wounds⁽¹¹⁾. The presence of biofilms may extend the inflammatory period⁽¹²⁾ thereby decreasing the proliferation of fibroblast cells that are responsible for the formation of collagen and epithelial cells that affect epithelial thickness in wound healing⁽¹³⁾. The biofilm also targets the inflammatory players such as cytokines. The presence of *Staphylococcus aureus* biofilms is associated with the increasing expression of TNF- α ⁽¹²⁾. The study of Sambanthamoorthy et al. reported that the biosurfactants produced from *Lactobacillus* had antimicrobial, anti-adhesive, and antibiofilm activity against *A. baumannii*, *E. coli*, and *S. aureus*⁽¹⁴⁾. Banat et al. mentioned several types of biosurfactants, sources, and their effectiveness against the biofilms of several bacteria such as *E. coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Candida albicans*, and others⁽¹⁵⁾.

Carbohydrate-based biosurfactants that have been studied have an activity against wound healing generally derived from microorganism sources as reported by Gupta et al. where the healing test of carbohydrate-based biosurfactant ointment (glycolipid) produced by *Bacillus licheniformis* bacteria was able to improve the reepithelization and remodeling of connective tissue (collagen)⁽¹⁶⁾. Other carbohydrate-based biosurfactant compounds such as dirhamnolipid isolated from *Pseudomonas aeruginosa* bacteria also show wound healing activity in both burns and decubitus ulcers^(17,18). Carbohydrate-based biosurfactant wound healing activity from natural sources such as dialkyl alginate compounds has not been reported so far. Alginates used in wound healing are generally still in the form of carbohydrate compounds - not in the form of biosurfactant (glycolipids). The oligosaccharide guluronate present in alginate has been investigated to have anti-inflammatory activity⁽¹⁹⁾; hence, it can be used to speed up the tissue repair of the wound. Alginate compounds are also often used as wound dressings because for being capable of spurring tissue granulation and reepithelization⁽²⁰⁾. Laurienzo mentioned that alginate dressing can accelerate the wound healing and granulation tissue formation, but this ability is constrained by the hydrophobic properties of alginate. Therefore, the structural modifications are needed to add hydrophobic properties to alginates, one of which

is by adding alkyl groups such as dialkyl alginate⁽²¹⁾.

Carbohydrate-based biosurfactants such as dialkyl alginate have some advantages such as readily available and renewable for its ingredients, having higher biodegradability and lower toxicity compared to petrochemical surfactants⁽²²⁾. Creams have the advantage to be applied to diabetes wounds, especially O/W type creams where the base is able to absorb the fluid released by the wound⁽²³⁾. This type of cream is also capable of increasing the permeability of the glycolipid group active substances as reported in Rodríguez-Luna⁽²⁴⁾. This study aims to examine the healing activity of diabetic wounds from biosurfactantsdialkyl alginate cream in vivo based on the expression of TNF- α and TGF- β , reepithelization and collagenization parameters.

MATERIAL AND METHOD

MATERIALS. Biosurfactant dialkyl alginate was obtained from Faculty of Chemistry of Universitas Pembangunan Nasional (UPN), Yogyakarta; Animal test: male rats of Wistar strains with body weight of 150-200 g obtained from Solo, Central Java, Indonesia; Madecassol® cream (Corsa®), Streptozotocin injection (Nacalaitesque®), sodium citrate, hydrogen chloride, glucose GOD FS reagent (Diasys®), Ketamine hydrochloride injection (Generik®), formalin solution 10%, Hematoxylin and eosin stain, Mallory stain (Anilin blue, acid fuchsin, & Orange G); TNF- α Polyclonal Antibody (Bioss®), and TGF- β Polyclonal Antibody (Bioss®).

METHODS. Preparation of biosurfactant dialkyl alginate cream. Biosurfactant dialkyl alginate was formulated in cream with formula from Dipahayu *et al.*⁽²⁶⁾ modified by a trial and error method. The composition of the cream is presented in Table 1.

Table 1. Composition of the cream.

Ingredients	Amount (%)
Biosurfactant dialkyl alginate	10
Vaseline	4
Stearic acid	1
Cera alba	2
Paraffin	13
Propylene glycol	15
Propil paraben	0,05
Trietanolamin	1
Metil paraben	0,10
Aquadest ad	100

Animal Preparation. Male rats of Wistar strains were acclimatized in individual stainless steel cage for one week prior to the induction of diabetes. Rats were fed with AD II and water ad libitum. The cage was illuminated with 12 h light/12 h dark cycle in laboratory condition (temperature 22 ± 2 °C, humidity 60-70%)⁽²⁷⁾. All rats have obtained an ethical approval from the Research Ethics Committee of the Faculty of Medicine and Health Sciences of Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (KEP UMY) (No: 296/EP-FKIK-UMY/V/2017).

Induction of Diabetes. The rats were fasted overnight and then their blood was taken for initial blood glucose measurement. The rats subsequently were induced with STZ 45 mg/kg of body weight. STZ was dissolved in cold citrate buffer (0.1 mol/l, pH 4.5). A total of 1.47 grams of sodium citrate were dissolved in 50 mL of CO₂-free aquadest and added a few drops of HCl to obtain pH 4.5 using pH meters. The dissolution process was carried out under cold conditions in an ice bath. Blood glucose examination was performed on day 5 after induction of STZ (baseline). Rat with blood glucose levels above 200 mg/dL was used for the experiment^(28,29).

Measurement of Blood Glucose Level. Blood glucose measurement was performed on the fifth day post-diabetic induction at Integrated Research Development Laboratory (LPPT) Gadjah Mada University (UGM), Yogyakarta. Blood glucose levels of rats were checked by glucose oxidase method using a spectrophotometer. Days 0 and 10 during the topical treatment of blood glucose levels were rechecked. After being fasted overnight, 1 mL mouse blood was taken from the orbital plexus using a capillary pipe and collected in an eppendorf tube. Blood flowed through the tube wall to avoid hemolysis. After 30 minutes, the blood was centrifuged at 7000 rpm for 15 minutes to obtain serum. The serum was separated from the blood by micropipette and determined its sugar content by the addition of GOD-FS reagents. A total of 10 μ L serum and 1000 μ L of reagents was mixed and incubated for 15 min at 37 °C. Furthermore, blood glucose levels were read using a UV VIS spectrophotometer that calibrated its blank absorbance at number 0 by measuring the absorbance of the aquadest blank. The sample and standard absorbance was measured against the blank at a wavelength of 505 nm⁽³⁰⁾. Body weights were monitored throughout the study and blood glucose levels were re-measured prior to euthanasia to ensure rats were actually in a

diabetic condition⁽²⁵⁾.

Wounding of Rats. The wound on the rats was made under the anaesthesia of ketamine (10 mg/mL of 0.4 mL i.p). The rat's hair on the right and left sides of the back was shaved and an excision wound made with a 5 mm diameter using a punch biopsy. Furthermore, topical treatment was given in rats twice a day. This method refers to Aksoy *et al.*⁽³¹⁾ with modifications.

Experimental Procedure. Wounded rats were grouped into 6 groups with 5 rats in each group. They were normal, negative, positive, bio, cream, and base cream group. The positive group was given by Madecassol cream that consists of *Centella asiatica* 1 %. Bio group was given by biosurfactant dialkyl alginate; cream group by biosurfactant dialkyl alginate cream, and base cream group by basic of cream.. Topical treatment was applied to every rat twice daily in the morning and afternoon for 9 days. This procedure has been referred to Kintoko *et al.*⁽²⁵⁾ with modifications.

Histopathological Study. Rats of each group were sacrificed under Ketamine® anaesthesia on day 10 post-injury for histopathological examination. The skin tissue was taken with a size of 0.5 cm from the outer edge of the wound. The skin tissue was fixed with 10 % formalin, immersed in paraffin, and sliced using microtomes with a thickness of 5µm with transversal. Furthermore, the sliced tissue was placed on the glass object to be stained. Haematoxylin eosin staining was performed to observe PMN cells, fibroblast cells and epithelial thickness; Mallory staining was performed to observe collagen; and immunohistochemistry to observe TNF- α and TGF- β expression. The coloured tissue was analysed using Olympus BX51 microscope with magnification 100x and 400x then processed using Image J application⁽²⁵⁾.

Statistical Analysis. Data were analysed statistically using SPSS 16 with post design analysis. The significance test used the One Way Anova parametric test and non-parametric Mann-Whitney test with 95 % significance level.

RESULT AND DISCUSSION

This study used streptozotocin (STZ) as a diabetic inducer. The administration of STZ in rats resulted permanent (irreversible) pancreatic β -cell necrosis⁽³²⁾ which could remove its ability to produce insulin. Laboratory experiments on STZ-induced rats of 45 mg/kgBW dose intraperitoneally was proven effective in producing the condition of diabetes⁽³³⁾. Diabetic condition in which blood glucose levels above 200 mg/dL occurred in all STZ-induced groups on day 0 of observations that were significantly different ($p < 0,05$) compared with normal group. The biosurfactant dialkyl alginate group and cream group showed higher blood glucose levels significantly ($p < 0,05$) compared with negative group on day 0, while on day 10 blood glucose levels decreased, especially in the biosurfactant dialkyl alginate group that was significantly different ($p < 0,05$) compared with negative group. These findings due to the differences in metabolism and immunity of the rats as reported in the Kintoko *et al.* study⁽²⁵⁾. Zulkarnain also reported a decrease in blood glucose levels after administration of low-dose STZ due to the spontaneous reversibility of pancreatic beta cells⁽³⁴⁾.

STZ also affected weight loss in the induction groups due to increased gluconeogenesis, glycogenolysis, and loss of tissue proteins. These weight loss percentage were higher and significantly different ($p < 0,05$) compared with normal group. Meanwhile, the cream group showed a smaller percentage of weight loss and was significantly different ($p < 0,05$) than negative group. Insulin deficiency after STZ induction causing metabolic disorders such as decreased protein levels⁽³⁵⁾, and impaired lipid metabolism that caused low triglycerides⁽²⁵⁾. This is also in line with the study of Zafar and Naqvi⁽³³⁾ in which STZ-induced animal appeared sick, polydipsy, and weight loss. Weight loss after STZ induction was also reported in the Nagarchi *et al.*⁽³⁶⁾.

Table 2. Blood glucose levels and weight loss of rats during treatment (n = 4).

Group	Blood glucose levels day 0 (mg/dL)	Blood glucose levels day 10 (mg/dL)	Weight loss (%)
Normal	84,4±12,31	63,4±8,59	3,34±1,03
Negative	426,2±46,05*	397,35±16,01*	-11,88±1,89*
MD	451,5±9,06*	255,05±117,57*	-6,82±4,10*
DA	570,8±23,48*#	170,52±118,83#	-9,06±9,81*
CDA	509,4±13,05*#	305,02±128,31*	-5,00±4,56*#
BC	341,6±82,02*	277,55±135,37*	-11,68±5,27*

MC : Madecassol cream that consists of *Centella asiatica* 1%.

DA : Biosurfactant dialkyl alginate.

CDA : Cream biosurfactant dialkyl alginate.

BC : Basic of cream

The observation number of PMN cells on day 10 showed a significant difference between negative group and normal group in which in negative group it still had PMN cells while in normal group was gone. The topical application of base cream was able to shorten the inflammatory period significantly ($p < 0,05$) compared to negative group but not as effective as the cream group and madecassol group that shortened the inflammatory period as a normal group. The topical application of biosurfactant dialkyl alginate showed no significant activity ($p > 0,05$) in shortening the inflammatory period compared to negative group.

Table 3. Number of PMN cells from skin tissue of rats (n = 4).

Group	Number of PMN cells (5 fields of view)
Normal	0,0±0,0
Negative	3,0±2,16*
MC	0,0±0,0 [#]
DA	0,5±1,0
CDA	0,0±0,0 [#]
BC	0,5±0,58 [#]

The inflammatory period of the biosurfactant dialkyl alginate, cream, and base cream did not show any significant difference ($p > 0,05$) compared to the positive control group (madecassol). In addition, the period of inflammation between topical application of cream and biosurfactant dialkyl alginate showed no significant difference ($p > 0,05$). Diabetes caused an extended period of inflammation in the wound healing process⁽³⁷⁾ characterized by presence of polymorphonuclear neutrophil (PMN) cells at the end of inflammatory phase. PMN is very important at the early stages of the inflammatory phase and includes the major cells that are recruited into the wound area. However, at the end of the inflammatory phase, these cells must be apoptosis and cleared from the wound area by macrophages that indicating the end of the inflammatory phase to begin the next wound healing phase. Failure of apoptotic process and clearance of PMN cells from this wound area led to chronic inflammation that caused wound was difficult to be healed as in diabetic wounds⁽³⁸⁾. In this study there was zero (0) on the number of PMN cells. It did not mean the absence of an inflammatory response, but indicated that the inflammatory phase of the wound healing process on the day 10 was over. The abundant number of PMN cells could be found on day 1-3 post-wound, after that the role of PMN cells in the wound healing process was replaced by macrophages from day 4-7 post-wound⁽³⁹⁾.

Deficiency or insulin resistance in diabetes

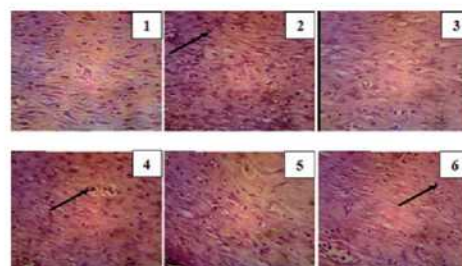


Figure 1. Histopathology of PMN cell with Hematoxylin & Eosin (HE) staining (400x magnification).

(1) = normal, (2) = negative, (3) = MC, (4) = DA, (5) = CDA, (6) = BC.

resulted in impaired keratinocyte migration which affected irregular reepithelization processes⁽⁴⁰⁾. The irregularities were histologically seen in the epithelial layer of the diabetic wound which was thinner than the normal wound as observed in the negative group. This result was in line with the research of Lan *et al.* which reported that diabetic wound has delayed epithelialization compared with normal wound⁽⁴¹⁾. Meanwhile, diabetic wound treated with madecassol, biosurfactant dialkyl alginate, and biosurfactant dialkyl alginate cream showed significantly thicker epithelial layer ($p < 0,05$) than the negative group. The capability of reepithelization of biosurfactant dialkyl alginate cream was in line with research conducted by Gupta *et al.* in which the surfactant tested in rats with

Table 4. Epithelial thickness from skin tissue of rats (n = 4).

Group	Epithelial thickness (μm)
Normal	75,15±22,35
Negative	28,1±5,61*
MC	77,7±8,94 [#]
DA	77,2±4,87 [#]
CDA	78,92±9,23 [#]
BC	54,3±3,12 ^{#,α,β,γ}

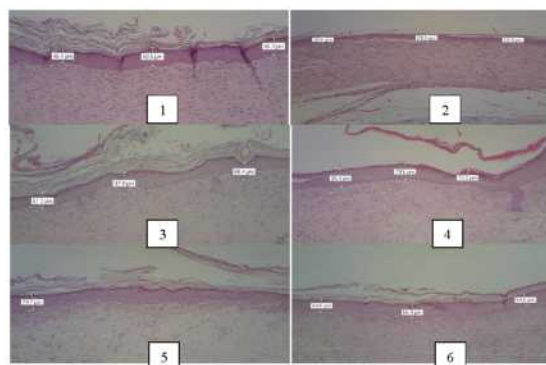


Figure 2. Histopathology of epithelial thickness with Hematoxylin & Eosin (HE) staining (400x magnification).

(1) = normal, (2) = negative, (3) = MC, (4) = DA, (5) = CDA, (6) = BC.

excision wounds showed rapid reepithelization⁽¹⁶⁾.

Diabetic wound healing disorders were caused by increased apoptosis of fibroblasts and collagen deposition disorder⁽⁴²⁾. This was seen in the negative group in which the number of fibroblasts cells was significantly ($p < 0,05$) less than the normal group, as did the density of collagen.

Table 5. Number of fibroblasts and collagen density from skin tissue of rats (n = 4).

Group	Number of fibroblasts	Collagen density
Normal	96,5±7,85	49,87±3,68
Negative	62,5±17,67*	41,28±4,71*
MC	64±4,32*	56,96±1,00* [#]
DA	50±6,98* ^a	48,50±5,35
CDA	50,5±7,94* ^a	48,90±3,08 ^a
BC	44,75±6,65* ^a	49,71±6,55

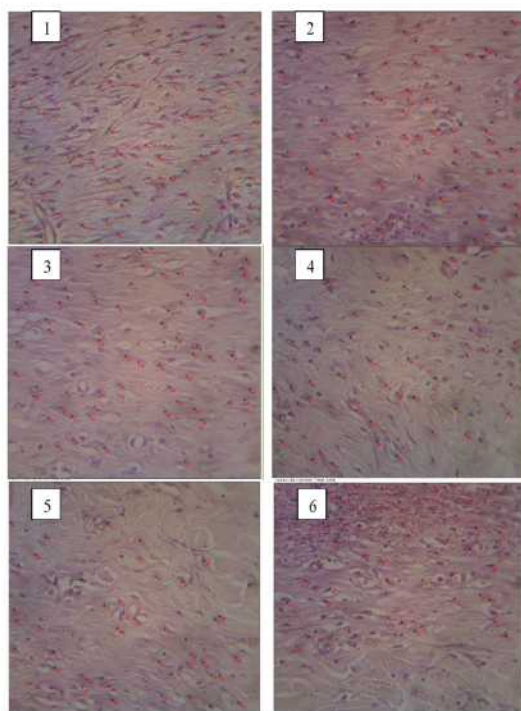


Figure 3. Histopathology of fibroblast cell with Hematoxylin & Eosin (HE) staining (400x magnification).

(1) = normal, (2) = negative, (3) = MC, (4) = DA, (5) = CDA, (6) = BC.

The collagen density of the topically administered group was also seen not to increase collagen density significantly compared with the negative group except for the madecassol group which collagen density was higher and significantly different ($p < 0,05$) from the negative group. This result was in line with the study of Wu *et al.* which reported that *Centella*

asiatica extract in madecassol was able to increase collagen synthesis⁽⁴³⁾. The decrease of fibroblasts and collagen cells in biosurfactant dialkyl alginate and biosurfactant dialkyl alginate cream according to Tajima *et al.* which examined the effects of alginate on fibroblast cell proliferation and collagen expression found that alginate was able to suppress the number of fibroblast cells and decrease collagen synthesis by

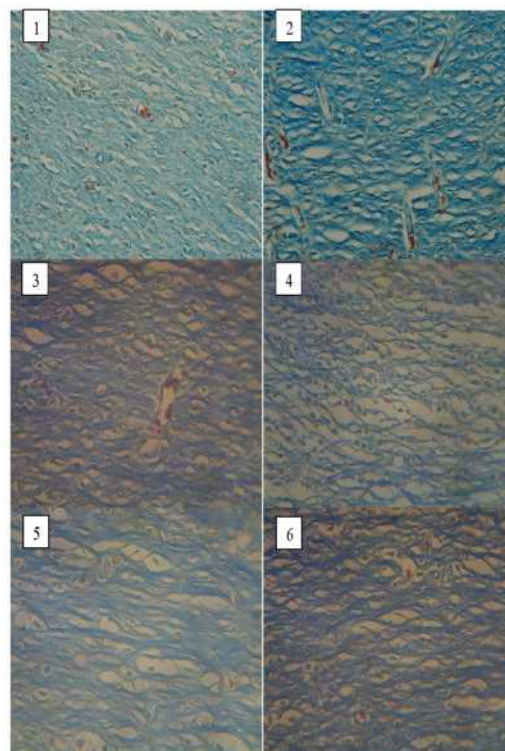


Figure 4. Histopathology of collagen density with Mallory staining (400x magnification).

(1) = normal, (2) = negative, (3) = MC, (4) = DA, (5) = CDA, (6) = BC.

half the control group⁽⁴⁴⁾.

Expression of TNF- α was higher significantly ($p < 0,05$) in negative group compared than normal group. It similar to result reported by Xu *et al.*⁽²⁾. Meanwhile, the topical application of biosurfactant dialkyl alginate cream showed decreasing of TNF- α expression and increasing of TGF- β expression significantly ($p < 0,05$). This result was similar to data submitted by DeClue and Shornick that high expression of TNF- α inhibited TGF- β activity⁽⁶⁾.

The normal process of wound healing at the beginning of the incidence was found proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6 and TNF- α produced by macrophages. Polymorphonuclear and macrophages were recruited by these cell molecules to the wound

base. The combination of TNF- α with IL-1 β and IL-6, stimulated the acute phase response⁽⁶⁾. The final phase of wound healing under normal circumstances was found angiogenesis, reepithelization, rebuilding extracellular matrix fibers, and TGF- β that produced by fibroblasts. The presence of TNF- α in this phase was almost non-existent. TGF- β was secreted by platelets, keratinocytes, local macrophages, and fibroblasts. The expression of TGF- β during normal wound healing reached peak in a few hours and on the fifth day after the wound would increase again⁽⁶⁾.

Table 6. Percentage of TNF- α and TGF- β expression from skin tissue of rats (n = 4).

Group	Expression (%)	
	TNF- α	TGF- β
Normal	11,98 \pm 2,88	50,19 \pm 7,43
Negative	27,48 \pm 5,30*	23,67 \pm 4,16*
MC	20,88 \pm 7,07	26,32 \pm 4,88
DA	20,63 \pm 3,34	19,70 \pm 4,50
CDA	19,30 \pm 3,18 [#]	30 \pm 6,06 [#]
BC	28,29 \pm 9,73	19,35 \pm 3,93

Results were expressed as median \pm SD.

*p < 0,05 when compared with normal group.

[#]p < 0,05 when compared with negative group.

^ap < 0,05 when compared with MC group.

^bp < 0,05 when compared with DA group.

^cp < 0,05 when compared with CDA group.

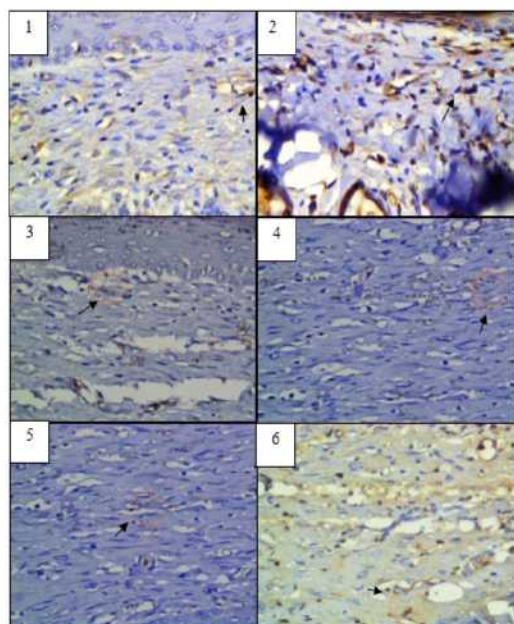


Figure 5. Microphotography of TNF- α expression with immunohistochemical staining (400x magnification).

(1) = normal, (2) = negative, (3) = MC, (4) = DA, (5) = CDA, (6) = BC.

TGF- β growth factor decreased in diabetic wound whereas this factor would induce the proliferation of cylinocyte and fibroblasts. Topical application of growth factors claimed to successfully accelerate the process of wound healing diabetes⁽⁴⁵⁾. The presence of persistent chemokine production in the final phase of diabetic wound healing was closely related to the recruitment of macrophages. This macrophage would continue to produce inflammatory cytokines one of them TNF- α ⁽⁶⁾. Controlling TNF- α can improve wound closure and angiogenesis in diabetic wounds⁽²⁾.

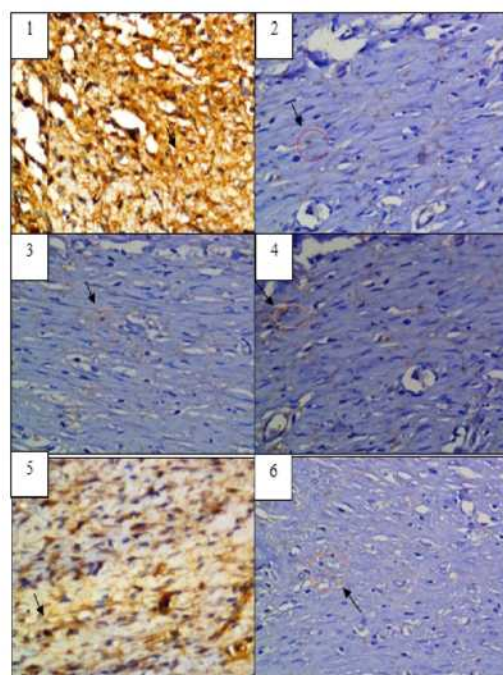


Figure 6. Microphotography of TGF- β expression with immunohistochemical staining (400x magnification).

(1) = normal, (2) = negative, (3) = MC, (4) = DA, (5) = CDA, (6) = BC.

CONCLUSION

The biosurfactant dialkyl alginate cream has the healing activity of diabetic wounds by influencing expression of TNF- α and TGF- β indirectly and able to increase epithelial thickness in reepithelization process but not increasing the number of fibroblast cells and collagen density on the process of collagenization.

RECOMMENDATION

These results suggest that the biosurfactant dialkyl alginate cream can accelerate the healing of diabetic wound. Research needs to be done with models of diabetic wounded animals infected with bacteria for

further wound healing activities.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Dr. Kintoko, M.Sc., Apt. for funding from LPPM, Ahmad Dahlan University, Yogyakarta, Indonesia.

REFERENCE

- Kavitha KV. Choice of wound care in diabetic foot ulcer: A practical approach. *World Journal of Diabetes*. 2014.5(4):546.
- Xu F, Zhang C, Graves DT. Abnormal cell responses and role of TNF- α in impaired diabetic wound healing. *BioMed Research International*. 2013.2013:1–9.
- Kristianto H, Nurachmah E, Gayatri D. Peningkatan ekspresi transforming growth factor beta 1 (TGF β 1) pada luka diabetes melitus melalui balutan modern. *Jurnal Keperawatan Indonesia*. 13(1):6.
- Ramirez H, Patel SB, Pastar I. The role of TGF- β signaling in wound epithelialization. *Advances in Wound Care*. 2014.3(7):482–91.
- Pakyari M, Farrokhi A, Maharlooei MK, Ghahary A. Critical role of transforming growth factor beta in different phases of wound healing. *Advances in Wound Care*. 2013.2(5):215–24.
- DeClue CE, Shomick LP. The cytokine milieu of diabetic wounds. *Diabetes Management*. 2015.5(6):525–37.
- McKelvey K, Xue M, Whitmont K, Shen K, Cooper A, Jackson C. Potential anti-inflammatory treatments for chronic wounds. *Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association*. 2012.20(2):86–9.
- Cukjati D, Reberšek S, Miklavčič D. A reliable method of determining wound healing rate. *Medical & Biological Engineering & Computing*. 2001.39(2):263–71.
- Prasetyono TOH. General concept of wound healing , revisited. *Med J Indones*. 2009.18(3):208–16.
- Broughton G, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006.117(7 SUPPL.):1–32.
- Percival SL, Mayer D, Malone M, Swanson T, Gibson D, Schultz G. Surfactants and their role in wound cleansing and biofilm management. *Journal of Wound Care*. 2017.26(11):680–90.
- Zhao G, Usui ML, Lippman SI, James GA, Stewart PS, Fleckman P, et al. Biofilms and inflammation in chronic wounds. *Advances in Wound Care*. 2013.2(7):389–9.
- Diegelmann, R. F., and Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience*. 2004.9(1–3):283.
- Sambanthamoorthy K, Feng X, Patel R, Patel S, Paranavitana C. Antimicrobial and antibiofilm potential of biosurfactants isolated from *Lactobacilli* against multi-drug-resistant pathogens. *BMC Microbiology*. 2014.14(1):197.
- Banat IM, De Rienzo MAD, Quinn GA. Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. *Applied microbiology and Biotechnology*. 2014.98(24):9915–29.
- Gupta S, Raghuvanshi N, Varshney R, Banat IM, Srivastava AK, Pruthi PA, et al. Accelerated in vivo wound healing evaluation of microbial glycolipid containing ointment as a transdermal substitute. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017.94:1186–96.
- Piljac A, Stipcevic T, Piljac-Zegarac J, Piljac G. Successful treatment of chronic decubitus ulcer with 0.1% dirhamnolipid ointment. *Journal of cutaneous medicine and surgery*. 2008.12(3):142–6.
- Stipcevic T, Piljac A, Piljac G. Enhanced healing of full-thickness burn wounds using di-rhamnolipid. *Burns*. 2006.32(1):24–34.
- Zhou R, Shi X, Gao Y, Cai N, Jiang Z, Xu X. Anti-inflammatory activity of guluronate oligosaccharides obtained by oxidative degradation from alginate in lipopolysaccharide-activated murine macrophage raw 264.7 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015.63(1):160–8.
- Hajiali H, Summa M, Russo D, Armirotti A, Brunetti V, Bertorelli R, et al. Alginate-lavender nanofibers with antibacterial and anti-inflammatory activity to effectively promote burn healing. *Journal of Materials Chemistry B*. 2016.4(9):1686–95.
- Laurienzo P. Marine polysaccharides in pharmaceutical applications: An overview. *Marine Drugs*. 2010.8(9):2435–65.
- Razafindralambo H, Blecker C, Paquot M. Carbohydrate-based surfactants: structure-activity relationships. *Advances in Chemical Engineering*; 2012.215–28 p.
- Oktavia MD, Ayu SK, Halim A. Pengaruh basis krim terhadap penetrasi kloramfenikol menggunakan kulit mencit. *Open Journal Systems*. 2012.4(1):42–9.
- Rodríguez-Luna A, Talero E, Terencio M, González-Rodríguez M, Rabasco A, de los Reyes C, et al. Topical application of glycolipids from isochrysis galbana prevents epidermal hyperplasia in mice. *Marine Drugs*. 2018.16(2):1–19.
- Kintoko K, Karimatulhaji H, Elfasyari TY, Ihsan EA, Putra TA, Hariadi P, et al. Effect of diabetes condition on topical treatment of binahong leaf fraction in wound healing process. *Majalah Obat Tradisional*. 2017.22:103.
- Dipahayu D, Soeratri W, Agil M. Formulasi krim antioksidan ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas (L.) lamk*) sebagai anti aging. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014.1(3):166–79.
- Dwivedi D, Dwivedi M, Malviya S, Singh V. Evaluation of wound healing, anti-microbial and antioxidant potential of *Pongamia pinnata* in wistar rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017.7(1):79–85.
- Brosius F. Low-dose *streptozotocin* induction protocol (mouse) summary : Reagents and materials : Reagent preparation : AMDCC Protocols. 2003;3.

29. El Kabbaoui M, Chda A, Mejrhit N, Azdad O, Farah A, Aarab L, et al. Antidiabetic effect of *Thymus satureioides* aqueous extract in *streptozotocin*-induced diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2016.8(9):140–5.
30. Sumalatha G, J VS, Ragini V, Suresh K. Extraction and evaluation of roots of *decalepis hamiltonii* for antidiabetic activity. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2010.2(3):20–5.
31. Aksoy H, Sen A, Sancar M, Sekerler T, Akakin D, Bitis L, et al. Ethanol extract of *Cotinus coggygria* leaves accelerates wound healing process in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*. 2016.54(11):2732–6.
32. Damasceno DC, Netto AO, Iessi IL, Gallego FQ, Corvino SB, Dallaqua B, et al. *Streptozotocin*-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes. *BioMed Research International*. 2014.2014:1–11.
33. Zafar M, Naqvi SN-H. Effects of STZ-induced diabetes on the relative weights of kidney, liver and pancreas in albino rats: A comparative study. *Int J Morphol*. 2010.28(1):135–42.
34. Zulkarnain. Perubahan kadar glukosa darah puasa pada tikus sprague dawley yang diinduksi *streptozotocin* dosis rendah. *Jurnal kedokteran syiah kuala*. 2013.13(2).
35. Hikmah N, Shita ADP, Maulana H. Diabetic blood glucose level profile with stratified dose *streptozotocin* (SD-STZ) and multi low dose *streptozotocin* (MLD-STZ) induction methods. *Journal of Tropical Life Science*. 2015.5(1):30–4.
36. Nagarchi K, Ahmed S, Sabus A, Saheb SH. Effect of *streptozotocin* on glucose levels in albino wister rats. *J Pharm Sci Res*. 2015.7:67–9.
37. Chokpaisarn J, Chusri S, Amnuaitkit T, Udomuksorn W, Voravuthikunchai SP. Potential wound healing activity of *Quercus infectoria* formulation in diabetic rats. *PeerJ*. 2017.5:e3608.
38. Khanna S, Biswas S, Shang Y, Collard E, Azad A, Kauh C, et al. Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *Vij N, editor. PLoS ONE*. 2010.5(3):e9539.
39. Braiman-Wiksman L, Solomonik I, Spira R, Tennenbaum T. Novel insights into wound healing sequence of events. *Toxicologic Pathology*. 2007.35(6):767–79.
40. Usui ML, Mansbridge JN, Carter WG, Fujita M, Olerud JE. Keratinocyte migration, proliferation, and differentiation in chronic ulcers from patients with diabetes and normal wounds. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2008.56(7):687–96.
41. Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, et al. Epithelialization in wound healing: A comprehensive review. *Advances in Wound Care*. 2014.3(7):445–64.
42. Zhang C, Ponugoti B, Tian C, Xu F, Tarapore R, Batres A, et al. FOXO1 differentially regulates both normal and diabetic wound healing. *The Journal of Cell Biology*. 2015.209(2):289–303.
43. Wu F, Bian D, Xia Y, Gong Z, Tan Q, Chen J, et al. Identification of major active ingredients responsible for burn wound healing of *Centella asiatica* herbs. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012.2012:1–13.
44. Tajima S, Inoue H, Kawada A, Ishibashi A, Takahara H, Hiura N. Alginate oligosaccharides modulate cell morphology, cell proliferation and collagen expression in human skin fibroblasts in vitro. *Archives of dermatological research*. 1999.291(7–8):432–6.
45. El Gzaerly H, Elbardisey DM, Eltokhy HM. Effect of transforming growth factor beta 1 on wound healing in induced diabetic rats. *International Journal of Health Sciences*. 2013.7(2):160–72.

Aktivitas Anti Obesitas Ekstrak Daun Tin (*Ficus Carica* Linn) pada Tikus yang Diberi Diet Lemak Tinggi

(Anti-Obesity Activity Tin Leaf Extract (*Ficus Carica* Linn) on The Rats Given High Fat Diets)

ERROL RAKHMAD NOORDAM*, SWASONO R TAMAT, SYAMSUDIN ABDILLAH

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan

Diterima 24 Januari 2019, Disetujui 26 Maret 2019

Abstrak: Kegemukan merupakan masalah kesehatan di masyarakat karena dapat menyebabkan risiko penyakit degeneratif seperti diabetes melitus tipe 2, tekanan darah tinggi, jantung, kanker, dan aterosklerosis. Gaya hidup yang tidak sehat seperti kurangnya aktivitas fisik dengan berolahraga, diet tinggi karbohidrat dan lemak, dapat menimbulkan timbunan lemak didalam tubuh terutama pada abdomen. Penggunaan obat kimia seperti Orlistat sebagai penurun berat badan atau untuk membantu mengurangi risiko mendapatkan kembali berat badan yang sudah hilang, kurang efektif karena memerlukan waktu konsumsi yang lama dan adanya efek samping. Kandungan daun tin (*Ficus carica* Linn) adalah flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid, ekstrak daun tin memiliki aktivitas antioksidan IC_{50} 150 mg/L. Penelitian ini untuk mengetahui aktivitas anti obesitas ekstrak daun tin pada tikus Sprague-Dawley jantan yang diberikan diet lemak tinggi. Tiga puluh tikus Sprague-Dawley diklasifikasikan kedalam 6 kelompok. Hasil yang diperoleh, pada kelompok dosis 100 mg/kg diperoleh berat badan rata-rata 381,8 gram; kelompok uji 200 mg/kg diperoleh berat badan rata-rata 414,5 gram; pada kelompok uji 400 mg/kg diperoleh 387 gram. Kesimpulan dari penelitian ini adalah aktivitas ekstrak daun tin (*Ficus carica* Linn) dapat digunakan sebagai anti obesitas.

Kata kunci: Anti obesitas, tin, *Ficus carica* Linn, Orlistat, diet tinggi lemak.

Abstract: Obesity is a health problem in the community because it can cause a risk of degenerative diseases such as type 2 diabetes mellitus, high blood pressure, heart disease, cancer, and atherosclerosis. Unhealthy lifestyles such as lack of physical activity by exercising, a diet high in carbohydrates and fats, can cause fat deposits in the body, especially in the abdomen. The use of chemical drugs such as Orlistat as a weight loss or to help reduce the risk of regaining lost weight, is less effective because it requires a long consumption time and the presence of side effects. Tin leaf (*Ficus carica* Linn) content is flavonoids, alkaloids, tannins and steroids, tin leaf extract has IC_{50} 150mg/L antioxidant activity. This study was to determine the anti-obesity activity of tin leaf extract in male Sprague-Dawley rats given a high fat diet. Thirty Sprague-Dawley rats were classified into 6 groups. The results obtained, in the group dose of 100 mg/kg obtained an average body weight of 381.8 grams, the test group 200 mg/kg obtained an average body weight of 414.5 grams, in the test group 400 mg/kg obtained 387 grams. The conclusion of this study is that the activity of tin leaf extract (*Ficus carica* Linn) can be used as an anti-obesity.

Keywords: Anti-obesity, tin, *Ficus carica* Linn, Orlistat, high fat diet.

*Penulis korespondensi: Hp :081316806226
e-mail: errolffup@gmail.com

PENDAHULUAN

OBESITAS merupakan kondisi seseorang yang memiliki angka berat badan diatas angka berat idealnya⁽¹⁾. Seseorang dengan *Body Mass Index* (BMI) 30 kg/m² atau lebih umumnya dianggap obesitas, jika BMI 25 – 29,9 kg/m² disebut pre obesitas. Untuk orang Asia, BMI diatas 25 kg/m² termasuk obesitas⁽²⁾. Masyarakat Indonesia terbiasa mengonsumsi karbohidrat berlebih. Nasi tetap menjadi makanan utama yang memiliki indeks glikemik (IG) yang tinggi sehingga cepat menaikkan glukosa dalam darah, sedangkan mi, ubi, dan roti sebagai makanan selingan⁽³⁾.

Penggunaan obat kimia seperti Orlistat digunakan sebagai penurun berat badan atau untuk membantu mengurangi risiko mendapatkan kembali berat badan yang sudah hilang, dengan cara memblok lemak yang dimakan agar tidak diserap oleh tubuh⁽⁴⁾. Penelitian sebelumnya memperlihatkan kemampuan ekstrak buah tin (*Ficus carica* L) dalam menghambat enzim lipase IC₅₀ 230,475 ± 9,65 µg/mL⁽⁵⁾, enzim ini memecah lipid dengan memutuskan ikatan ester yang merupakan ikatan gliserol pada substrat, sehingga menjadi dasar untuk uji aktivitas antiobesitas secara in vitro⁽⁶⁾. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas anti obesitas ekstrak daun tin pada tikus Sprague-Dawley jantan yang diberikan diet lemak tinggi.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan penelitian adalah 30 ekor tikus putih galur Sprague-Dawley, yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas UHAMKA Jakarta, ekstrak daun tin dengan dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg, Orlistat, CMC 0,1%, etanol 96%, fruktosa 66%, *aquadest*, tepung terigu, tepung jagung, tepung ikan, tepung kacang hijau, minyak sayur, dan lemak sapi.

Alat. Kandang tikus, timbangan tikus, tempat minum, jarum suntik, sonde oral, alat sentrifuga, alat-alat bedah, pH meter, mortir, alu, tabung reaksi, rak tabung, labu tentukur, botol coklat, pipet tetes, timbangan analitik (AND GR 200), mikropipet, penangas air, lemari pendingin, tabung effendorf, Rotavapor (Buchi), set bedah laparotomy.

METODE. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, terhadap uji kenaikan berat badan tikus, uji kenaikan lemak abdominal dari ekstrak daun tin (*Ficus carica* L) yang diambil dari Pasuruan Jawa Timur. *Rattus novvergicus* strain Sprague-Dawley jantan dilakukan randomisasi untuk mendapatkan nomor urut dan dikelompokkan kedalam 6 kelompok. Kelompok 1 adalah kelompok normal yang diberikan

pakan normal dan CMC 0,1% selama 35 hari. Kelompok 2 adalah kelompok dosis 100 mg/kg, diberikan pakan diet tinggi dan larutan fruktosa 66% selama 21 hari dan diberikan ekstrak daun tin 100 mg/kg selama 14 hari. Kelompok 3 adalah kelompok dosis 200 mg/kg, diberikan pakan diet tinggi dan larutan fruktosa 66% selama 21 hari dan diberikan ekstrak daun tin 200 mg/kg selama 14 hari. Kelompok 4 adalah kelompok dosis 400 mg/kg, diberikan pakan diet tinggi dan larutan fruktosa 66% selama 21 hari dan diberikan ekstrak daun tin 400 mg/kg selama 14 hari. Kelompok 5 adalah kelompok kontrol negatif yang diberikan pakan diet tinggi dan fruktosa 66% selama 35 hari. Kelompok 6 adalah kelompok kontrol positif diberikan pakan diet tinggi dan fruktosa 66% selama 21 hari dan Orlistat selama 14 hari.

Hewan coba kelompok 1 sampai 6 setelah perlakuan 35 hari, dihilangkan kesadarannya dengan eter sebelum dimatikan kemudian dibedah dan diambil organ hati, limpa, ginjal, testikel, lemak retroperitoneal, epididimal dan peritoneal. Organ dipisahkan dari jaringan lemaknya, kemudian organ dan lemak ditimbang beratnya.

Komposisi diet rendah lemak dan diet tinggi lemak. Komposisi pakan normal yang digunakan adalah tepung terigu 41%, tepung jagung 25%, tepung ikan 16%, tepung kacang hijau 14%, dan minyak sayur 4%, pakan dibuat 3,5 kg.

Komposisi makanan diet tinggi lemak yaitu tepung terigu 13%, tepung jagung 25%, tepung ikan 16%, tepung kacang hijau 14%, dan lemak sapi 32%. Lemak sapi ditimbang lalu dipanaskan hingga mencair kemudian dicampurkan dengan semua tepung, dibuat sebanyak 16,5 kg. Untuk minuman pada kelompok uji yang diberikan pakan diet tinggi lemak adalah larutan fruktosa 66% yaitu fruktosa sebanyak 66 gram dilarutkan dalam 100 mL *aquadest* larutkan hingga homogen.

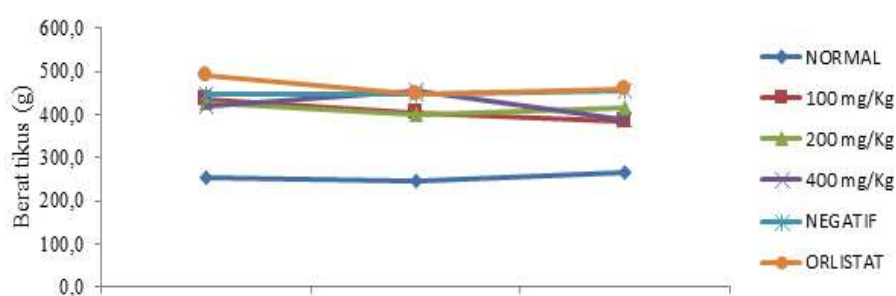
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat Badan Tikus. Setelah 35 hari tikus ditimbang terlebih dahulu. Kelompok normal didapatkan berat rata-rata 264 gram. Pada kelompok uji yang diberi diet tinggi terdapat peningkatan berat badan 44,62%. Penambahan berat badan pada tikus 44,62% dikategorikan kedalam kelompok obesitas jika penambahan berat badan 20% dari berat normal.

Pada kelompok dosis 100 mg/kg diperoleh berat rata-rata 381,8 gram; kelompok uji 200 mg/kg memperoleh rata-rata berat badan 414,5 gram; pada kelompok uji 400 mg/kg diperoleh 387 gram. Pada kelompok dosis 200 mg/kg dan 400 mg/kg memperlihatkan bahwa semakin besar konsentrasi

Tabel 1. Data rata-rata berat badan tikus (g).

Kelompok	Dosis perlakuan					
	Normal	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg	Negatif	Orlistat
1	229	480	337	403	541	405
2	262	315	473	326	419	420
3	259	293	-	445	415	473
4	293	427	423	374	441	606
5	277	394	425	-	-	398
Rata-rata	264,0	381,8	414,5	387,0	454,0	460,4



Gambar 1. Grafik berat badan rata-rata tikus kelompok uji setelah perlakuan.

ekstrak etanol daun tin (*Ficus carica* Linn) maka semakin besar penurunan berat badan tikus yang diujikan (Tabel 1 dan Gambar 1). Pada penelitian lainnya dengan ekstrak anggur penurunan berat badan tikus pada kelompok dosis 250 mg dalam 1 mL diperoleh berat 159,70 gram; pada dosis 500 mg dalam 1 mL diperoleh berat 153,60 gram; sedangkan kelompok kontrol yang diberikan diet tinggi karbohidrat dan lemak diperoleh berat 171,30 gram⁽⁷⁾.

Data Sisa Makanan dan Feses Tikus. Setiap harinya semua kelompok tikus diberikan makan 100 gram / kelompok dan keesokan harinya ditimbang sisa makanan dan feses tikus. Data pada Tabel 2 memperlihatkan kelompok tikus normal yang diberikan pakan normal rata-rata sisa makanan adalah 10,05 gram. Pada kelompok 100 mg/kg diperoleh rata-rata sisa makanan 17,23 gram; pada kelompok 200 mg/kg diperoleh rata-rata sisa makanan 17,03 gram; pada kelompok 400 mg/kg diperoleh rata-rata sisa makanan 14,26 gram; sedangkan pada kelompok negatif rata-rata sisa makanan 11,35 gram. Hal ini memperlihatkan bahwa sisa makanan lebih banyak maka jumlah makanan yang dimakan lebih sedikit sehingga berat badan lebih rendah.

Setiap harinya di hitung jumlah berat feses tikus pada masing-masing kelompok, pada data di Tabel 2 memperlihatkan kelompok tikus normal yang

diberikan pakan normal rata-rata feses adalah 14,00 gram. Pada kelompok 100 mg/kg diperoleh feses 13,67 gram; pada kelompok 200 mg/kg diperoleh feses 14,33 gram; pada kelompok 400 mg/kg diperoleh feses 15,00 gram. Hal ini memperlihatkan adanya peningkatan feses pada kelompok tikus, semakin tinggi dosis pemberian semakin banyak feses tikusnya.

Pengamatan data feses tikus dilakukan berdasarkan mekanisme kerja dari obat yang dapat menurunkan berat badan tikus dengan menghambat penimbunan lemak jaringan adiposa karena lemak berkurang dikeluarkan bersama feses. Pada kelompok pembandingan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok ekstrak 200 mg/kg dan 400 mg/kg, artinya ekstrak tersebut berpengaruh terhadap indeks feses, kelompok ekstrak yang pengaruhnya mendekati pembandingan adalah ekstrak 400 mg/kg⁽⁸⁾.

Tabel 2. Data sisa makanan dan feses tikus.

Kelompok	Sisa makanan (g)	Data feses (g)
Normal	10,05	14,00
100 mg/kg	17,23	13,67
200 mg/kg	17,03	14,33
400 mg/kg	14,26	15,00
Negatif	11,35	17,33
Orlistat	15,89	14,00

Data Berat Organ Tikus. Setelah dilakukan pembedahan lalu diambil organ-organ tikus yaitu hati, limpa, ginjal, dan testikel, dibilas dengan larutan NaCl 0,9% lalu dikeringkan dan ditimbang. Kemudian dihitung rasio berat organ dengan berat badan tikus. Rata-rata berat dari masing-masing kelompok tertera di Tabel 3.

Rasio Berat hati dengan Berat Badan Tikus. Setelah tikus dibedah, dilakukan pengambilan organ hati tikus dan dibilas NaCl sebelum dilakukan penimbangan. Pada data Tabel 3 memperlihatkan rasio berat organ hati dengan berat badan tikus. Pada kelompok tikus yang diberikan pakan normal diperoleh rasio 0,0213 sedangkan pada kelompok negatif diperoleh rasio 0,0230.

Pada kelompok negatif rasio lebih besar daripada kelompok lainnya, hal ini didapati karena semakin banyak karbohidrat yang dikonsumsi secara berlebihan, maka lipogenesis *de novo* oleh hati akan semakin besar jumlahnya, asalkan jumlah karbohidrat yang ada tidak lebih kecil dari keluaran energi total⁽⁹⁾. Setelah pemberian sediaan ekstrak daun tin, pada dosis 100 mg/kg rasio yang diperoleh 0,0176; pada dosis 200 mg/kg rasio yang diperoleh 0,0197; pada dosis 400 mg/kg rasio yang diperoleh 0,0207; dan pada Orlistat rasio yang diperoleh 0,0176. Terdapat peningkatan rasio berat hati dengan berat badan tikus dari dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg dan 400 mg/kg.

Rasio Berat Limpa dengan Berat Badan Tikus. Setelah tikus dibedah, dilakukan pengambilan organ limpa tikus dan dibilas NaCl sebelum dilakukan penimbangan. Pada data di Tabel 3 menunjukkan bahwa kelompok negatif yang diberikan pakan diet tinggi karbohidrat dan lemak lebih besar dari pada kelompok lainnya karena untuk dapat menembus dinding usus, monogliserida dan asam lemak bebas ini harus berikatan terlebih dahulu dengan garam empedu untuk membentuk *micelle*⁽¹⁰⁾. Bagian dalam usus kecil diselubungi dengan villi yang berfungsi memperluas permukaan, guna mempercepat penyerapan hasil-hasil pencernaan⁽¹¹⁾. Saat lemak diabsorpsi, akan melewati *small lymph vessels*, yang disebut *lacteal*, untuk

kemudian didistribusikan ke dalam sistem limpa dan masuk ke dalam sistem sirkulasi menjadi asam amino tunggal untuk diserap ke dalam darah⁽¹²⁾.

Pada penelitian lainnya, indeks organ diperoleh dengan cara membagi bobot organ dengan bobot badan hewan uji. Data indeks organ hati, terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok normal dengan kelompok induksi, yaitu rerata indeks organ hati pada kelompok induksi lebih rendah daripada kelompok normal. Dari hasil uji statistik menggunakan uji LSD, terdapat perbedaan bermakna pula antara kelompok induksi dengan kelompok ekstrak 200 mg/kg, namun ekstrak tersebut tidak berbeda bermakna dengan kelompok normal ($p > 0,05$), sehingga dapat dikatakan ekstrak mempengaruhi bobot hati yaitu lebih kepada meningkatkan organ hati sehingga menjadi normal kembali.

Pada indeks organ ginjal, terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok induksi dengan kelompok normal, artinya induksi berpengaruh terhadap indeks organ ginjal. Berdasarkan uji statistik LSD, tidak ada perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) antara kelompok induksi dengan kelompok ekstrak, sehingga pemberian ekstrak uji tidak mempengaruhi bobot organ ginjal.

Pada indeks organ testis terlihat bahwa indeks organ testis pada kelompok induksi lebih rendah daripada normal yaitu memperkecil organ testis. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan indeks organ testis antara kelompok normal, pembanding, dan kelompok ekstrak dosis 100 dan 400 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak uji dosis 100 dan 400 mg/kg memperbaiki indeks organ yang sebanding dengan kelompok normal. Sedangkan indeks organ testis kelompok ekstrak 200 mg/kg berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok normal yaitu lebih tinggi artinya kelompok ekstrak 200 mg/kg meningkatkan indeks organ testis.

Hasil uji terhadap indeks organ limpa, terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok induksi dengan pembanding, namun tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok induksi, normal, dan ekstrak. Hal ini berarti ekstrak tidak berpengaruh terhadap indeks organ limpa⁽⁸⁾.

Lemak Retroperitoneal. Setelah tikus dibedah, dilakukan pengambilan lemak tikus pada bagian retroperitoneal, epididimal, dan peritoneal, lalu dibilas NaCl sebelum dilakukan penimbangan. Pada data di Tabel 4 terlihat bahwa pada kelompok negatif diperoleh lemak pada bagian retroperitoneal 2,9275 gram sedangkan pada kontrol positif Orlistat diperoleh berat lemak 2,4002 gram. Pada kelompok ekstrak daun tin 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg, diperoleh berat lemak retroperitoneal sebanyak

Tabel 3. Data organ hati, ginjal, limpa, dan testikel tikus.

Kelompok	Organ (g)			
	Hati	Ginjal	Limpa	Testikel
Normal	0,0213	0,0045	0,0025	0,0003
100 mg/kg	0,0176	0,0033	0,0025	0,0004
200 mg/kg	0,0197	0,0040	0,0029	0,0003
400 mg/kg	0,0207	0,0040	0,0023	0,0004
Negatif	0,0230	0,0036	0,0041	0,0003
Orlistat	0,0176	0,0036	0,0032	0,0004

Tabel 4. Lemak pada retroperitoneal, epididimal, dan peritoneal.

Kelompok	Lemak (g)		
	R	E	P
Normal	0,5575	0,0164	0,0849
100 mg/kg	2,3623	0,1608	0,5099
200 mg/kg	2,2568	0,1275	0,5426
400 mg/kg	2,4992	0,1726	0,4393
Negatif	2,9275	0,6123	0,5215
Orlistat	2,4002	0,1459	0,4185

Keterangan: R=Retroperitoneal, E=Epididimal, P=Peritoneal

2,3623 gram; 2,2568 gram; dan 2,4992 gram. Semua konsentrasi dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg dan 400 mg/kg ekstrak daun tin dapat menurunkan berat lemak pada retroperitoneal.

Lemak pada Epididimal. Pada data di Tabel 4 lemak epididimal yang terpadat pada kelompok negatif sebanyak 0,6123 gram; sedangkan pada kelompok ekstrak 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg, diperoleh berat lemak epididimal sebanyak 0,1608 gram; 0,1275 gram; dan 0,1726 gram. Penurunan lemak ini juga terjadi pada kelompok Orlistat 0,1459 gram.

Lemak pada Peritoneal. Pada data di Tabel 4, pada kelompok normal berat lemak peritoneal yang diperoleh 0,0849 gram; sedangkan pada kelompok negatif diperoleh 0,5215 gram. Pada kelompok dosis 100 mg/kg diperoleh berat lemak 0,5099 gram, pada kelompok dosis 200 mg/kg diperoleh berat lemak 0,5426 gram; dan pada kelompok dosis 400 mg/kg diperoleh 0,4393 gram yang mendekati kontrol positif 0,4185 gram.

Pada penelitian lainnya, Pada indeks lemak retroperitoneal, kelompok induksi memberikan perbedaan signifikan antara kelompok normal dengan semua kelompok ekstrak, hal ini menunjukkan bahwa kelompok induksi memiliki distribusi lemak yang lebih besar yang terakumulasi pada rongga perut. Hasil uji statistik Bonferroni, ekstrak dosis 200 dan 400 mg/kg memiliki perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) lebih rendah daripada kelompok induksi, artinya ekstrak tersebut memiliki potensi dalam mengurangi deposit lemak retroperitoneal.

Hasil uji indeks lemak epididimal menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan terhadap kelompok induksi. Hal ini menunjukkan bahwa induksi pakan tinggi lemak dan karbohidrat meningkatkan indeks lemak epididimal. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan antara kelompok ekstrak uji dibandingkan terhadap kelompok induksi. Indeks lemak epididimal pada kelompok ekstrak lebih rendah

daripada kelompok induksi sehingga ekstrak uji mempengaruhi lemak epididimal dengan menurunkan bobot lemak epididimal tersebut. Hasil uji statistik bahwa ekstrak 200 mg/kg menunjukkan tidak berbeda nyata dengan kelompok normal, artinya indeks lemak epididimal kelompok yang menerima ekstrak dosis 200 mg/kg tersebut sebanding kelompok normal, lebih baik daripada kelompok yang diberikan ekstrak 100 dan 400 mg/kg⁽⁸⁾.

SIMPULAN

Aktivitas anti obesitas ekstrak etanol daun tin (*Ficus carica* Linn) pada kelompok uji dengan dosis 200 mg/kg dan 400 mg/kg memperlihatkan adanya aktivitas penurunan berat badan, bahwa semakin besar konsentrasi semakin besar penurunan berat badan tikus yang diujikan. Pada rasio organ hati dan limpa, didapatkan semakin tinggi dosis pemberian semakin kecil rasio berat organ dengan berat badan tikus. Semua konsentrasi dosis dapat menurunkan berat lemak pada retroperitoneal, epididimal, dan peritoneal.

DAFTAR PUSTAKA

- Schienkiewitz A, Mensink G, Kuhnert R, Lange C. Overweight and obesity among adults in Germany. *Journal of Health Monitoring*. 2017. 2(2):20-7 DOI 10.17886/RKI-GBE-2017-038
- Santu D, Kallol C. A Study of VO₂ max in relation with Body Mass Index (BMI) of physical education students. *Visva-Bharati University*, Pin- 731235, W.B, India. 2015. 3(6):9-12.
- Greenwood DC, Threapleton DE, Evans CE, Cleghorn CL, Nykjaer C, Woodhead C, et al. Glycemic index, glycemic load, carbohydrates, and type 2 diabetes. Systematic review and dose–response meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care* 36:4166–4171. 2013. 26(12):4166-71.
- Joko S, Dwi AN, Mustofa, Saryono. Efek orlistat, ekstrak biji kopi hijau, dan kombinasinya terhadap kadar adiponektin dan profil lipid. *Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan. Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto. Jurnal Ners*. 2014. 9(1):26-34.
- Ramgopal M, Muniswamy G, Balaji M, Neil AK, Shahidul I. The effect of *Ficus carica* on the activity of enzymes related to metabolic syndrome. Department of Biochemistry, School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal, Westville Campus, Durban, South Africa. 2018. 201-10.
- Ana F. Uji in vitro ekstrak air dan etanol dari bahan buah asam gelugur, rimpang lengkuas, dan kencur sebagai inhibitor aktivitas lipase pankreas [skripsi]. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian; 2009. hal. 5-7.

7. Larissa K. Pemberian ekstrak anggur (*Vitis vinifera*) oral dapat mencegah kenaikan berat badan dan lemak abdominal pada tikus wistar jantan yang diberi diet tinggi karbohidrat dan lemak [Tesis]. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar; 2014. hal 85-91.
8. Patonah, Elis S, Ahmad R. Aktivitas antiobesitas ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) pada model mencit obesitas. Laboratorium Farmakologi, Sekolah tinggi Farmasi Bandung. Bandung. Pharmacy. 2017. 14(2):146-8.
9. Muray, R. Granner, D. Mayes, P. Rodwell, V. Harper's Illustrated Biochemistry 31st Edition. Lange Medical Books; 2018. p. 129-40.
10. Sirichai A, Julnaryn I, Araya H, Benjanut C, Kittana M. Extracts of edible plants inhibit pancreatic lipase, cholesterol esterase and cholesterol micellization, and bind bile acids. ISSN 1330-9862 original scientific paper (FTB-2539). Chulalongkorn University. 2012. 50(1):11-6.
11. Yessy AS. Gambaran histologis dan tinggi vili usus halus bagian ileum ayam ras pedaging yang di beri tepung daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam ransum [skripsi]. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hassanudin. 2016. hal. 2-13.
12. Dee US. Human Ch. 21 The Digestive system - Human Physiology: an Integrated Approach. University at Buffalo; 2016. p. 742-72.

Formulasi dan Evaluasi Larutan Pencuci Mulut dengan Bahan Antimikroba Senyawa 1,5-Bis(3'-Etoksi-4'-Hidroksifenil)-1,4-Pentadien-3-On

(Formulation and Evaluation of Mouthwash with 1,5-Bis(3'-Etoksi-4'-Hidroksifenil)-1,4-Pentadien-3-On As Antimicrobial Ingredient)

ESTI MUMPUNI*, AGUS PURWANGGANA, ESTI MULATSARI, RYAN PRATAMA

Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

Diterima 12 November 2018, Disetujui 4 April 2019

Abstrak: Senyawa 1,5-bis(3'-etoksi-4'-hidroksifenil)-1,4-pentadien-3-on (EHP) merupakan analog kurkumin yang memiliki aktivitas antimikroba. Pada penelitian ini, dilakukan formulasi dan evaluasi larutan pencuci mulut dengan EHP sebagai bahan aktif antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk membuat formula dan menguji kestabilan formula obat kumur dengan bahan aktif EHP. Formulasi larutan pencuci mulut dibuat dengan variasi konsentrasi senyawa EHP 3, 6, 12, 16 dan 18 bpj. Evaluasi larutan pencuci mulut meliputi uji organoleptik, pH, kejernihan, bobot jenis dan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, dan *Candida albicans*. Uji antimikroba dilakukan dengan metode difusi agar. Hasil evaluasi sediaan obat yang didapat dari pengujian organoleptik antara lain obat kumur berupa cairan dengan warna biru jernih, aroma mint dan rasa segar; memiliki rentang pH 6,15 - 6,74; dan bobot jenis 1,0419 - 1,0561 g/cm³. Evaluasi larutan pencuci mulut menunjukkan bahwa larutan pencuci mulut stabil dalam penyimpanan selama 1 bulan pada suhu 40°C. Uji antimikroba menunjukkan diameter daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); *Streptococcus mutans* (ATCC 31987) dan *Candida albicans* (ATCC 10231) berkisar antara 6,2-8,4 mm pada konsentrasi senyawa EHP 18 bpj. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa EHP sangat potensial digunakan sebagai bahan antimikroba dalam formula larutan pencuci mulut.

Kata kunci: EHP, antimikroba, obat kumur.

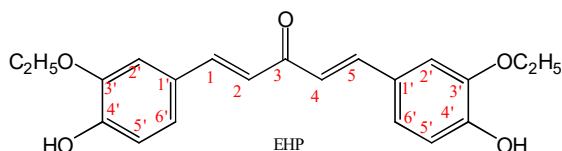
Abstract: 1,5-bis(3-ethoxy-4-hydroxyphenyl)-1,4-pentadien-3-one (EHP) compound is an analogous compound of curcumin which has antimicrobial activity. In this study, the formulation and evaluation of mouthwash was carried out with EHP as an antimicrobial ingredient. The formulation of mouthwash was made with various concentrations of EHP 3, 6, 12, 16 and 18 ppm. Evaluation of mouthwash included organoleptic test, pH, clarity, density and antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, and *Candida albicans*. Antimicrobial test was done by agar diffusion method. The results of organoleptic test obtained mouthwash was clear blue liquid, the aroma of mint, and fresh cold taste; pH range of 6.15 - 6.74; density of 1.0419 - 1.0561 g/cm³. The evaluation of mouthwash showed that the mouthwash was stable in storage for 1 month at 40 °C. Antimicrobial tests showed the diameter of inhibitory zone against *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); *Streptococcus mutans* (ATCC 31987) and *Candida albicans* (ATCC 10231) ranged from 6.2 to 8.4 mm at the concentration of EHP 18 ppm. The results showed that EHP compound was potential as antimicrobial ingredient in mouthwash formula.

Keywords: EHP, antimicrobial, mouthwash.

*Penulis korespondensi, Hp.08151663201
email: esti.mumpuni@univpancasila.ac.id

PENDAHULUAN

SENYAWA 1,5-bis(3'-etoksi-4'-hidroksifenil)-1,4-pentadien-3-on (EHP) merupakan senyawa analog kurkumin yang telah berhasil disintesis Mumpuni et al 2010⁽¹⁾. Struktur kimia senyawa EHP ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia senyawa EHP.

Senyawa EHP memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan kurkumin maupun senyawa modifikasi kurkumin lainnya. Toksisitas senyawa ini digolongkan toksik ringan dengan nilai LD₅₀ 6,87 g/kg BB. EHP mempunyai aktivitas antiinflamasi dengan dosis 137,35 mg/kg BB; 274,70 mg/kg BB; dan 549,40 mg/kg BB sama dengan aspirin 90 mg/200 g BB⁽²⁾.

Senyawa EHP juga berpotensi sebagai antibakteri. Uji *in silico* menunjukkan EHP memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik. Hal ini ditunjukkan dengan nilai ChemPLP EHP (-91.2811) yang jauh lebih rendah pada reseptor atau enzim pengangkut D-Alanil-D-Alanin (DACA) dengan kode pdb 3MZD dibandingkan dengan asil kloksasilin yang merupakan ligan native nya (-81, 9278). Nilai tersebut juga lebih rendah dari nilai ChemPLP amoxicillin dan sefadroksil (-87,5589 dan -85,4997). Uji secara *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa EHP memiliki potensi sebagai antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan antibiotik *amoxicillin* dan sefadroksil dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) 0,15 bpj dan diameter daerah hambat (DDH) 11 mm pada bakteri gram positif maupun gram negatif⁽³⁾.

Bakteri, baik aerob maupun anaerob, merupakan salah satu pemicu terjadinya suatu infeksi dengan cara menginvasi dan berkembang biak dalam jaringan tubuh atau di dalam rongga mulut. Mulut merupakan tempat ratusan bakteri yang dapat memproduksi berbagai substansi yang memberi bau busuk sebagai hasil degradasi protein⁽⁴⁾. Infeksi pada rongga mulut sering kali melibatkan bakteri aerob dan anaerob seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. Mikroba tersebut merupakan bakteri flora normal pada selaput mukosa saluran pencernaan, tetapi dalam jumlahnya yang meningkat akan menjadi patogen. Bakteri aerob yang dapat menyebabkan infeksi gigi dan mulut adalah

Staphylococcus aureus dan *Streptococcus mutans* dengan cara menginvasi dan berkembang biak dalam jaringan tubuh atau rongga mulut^(5,6). Infeksi rongga mulut juga dapat disebabkan oleh infeksi jamur *Candida albicans* disebut sebagai kandidiasis⁽⁷⁾. Infeksi *Candida albicans* sangat jarang terjadi, dan biasanya terjadi pada kondisi dimana keseimbangan flora normal terganggu, atau terdapat gangguan imunitas. Kandidiasis mulut muncul sebagai *patch* berwarna putih pada selaput lendir mulut, lidah dan bagian lain dalam mulut.

Larutan pencuci mulut merupakan suatu larutan air yang digunakan sebagai pembersih untuk meningkatkan kesehatan rongga mulut, estetika dan kesegaran nafas⁽⁸⁾. Larutan pencuci mulut dapat digunakan untuk membunuh bakteri, menghilangkan bau tak sedap dan mencegah karies⁽⁹⁾. Ada berbagai macam larutan pencuci mulut yang telah beredar di pasaran saat ini. Bahan aktif yang digunakan antara lain *menthol*, *thymol*, *hexetidine*, dan metil salisilat. Berbagai penelitian tentang formulasi dan evaluasi larutan pencuci mulut dengan bahan aktif kimia maupun alami juga telah banyak dilakukan, antara lain : larutan pencuci mulut dengan bahan aktif ekstrak polih herbal^(10,11), *rosmarinus officinalis*⁽¹²⁾, *euphorbia hirta*⁽¹³⁾, *libidibia ferrea*⁽¹⁴⁾. Pada penelitian ini dilakukan formulasi dan evaluasi larutan pencuci mulut dengan menggunakan senyawa EHP sebagai bahan antimikroba. Formulasi ini diharapkan dapat memberi alternatif produk larutan pencuci mulut baru yang memiliki antibakteri yang baik dan lebih ekonomis.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang akan digunakan dalam penelitian adalah senyawa EHP hasil sintesis yang mengacu prosedur sintesis dan karakterisasi oleh Mumpuni *et al*, 2010, media *nutrient agar* (NA), kaldu pepton, saburo dextrose agar, akuades, Na lauryl sulfat, sorbitol, propilen glikol, mentol, *brilliant blue*, bakteri uji yang digunakan *Streptococcus mutans* (ATCC31987), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Candida albicans* (10231).

Alat. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik, timbangan mikro (Mettler MT5), oven *microwave* (Cevilla, CMG 003), *stir plate & stirrer*, piknometer (Iwaki), alat-alat gelas (Pyrex), alat-alat volumetrik, pH meter, kertas saring, spatula, kertas perkamen, pipa kapiler, *Laminar Air Flow cabinet*, lampu spiritus, oven, jarum ose, kapas, dan rak tabung.

METODE. Formulasi Larutan Pencuci Mulut.

Formulasi larutan pencuci mulut dibuat dengan variasi konsentrasi EHP 3 bpj, 6 bpj, 12 bpj, 16 bpj dan 18 bpj menggunakan formula standard dengan penambahan rasa dan coloring agent. Formula larutan pencuci mulut disajikan pada Tabel 1.

dengan cara melarutkan 1,0 g hidrazin sulfat dalam air secukupnya hingga 100,0 mL, dibiarkan selama 4-6 jam. Pada 25,0 mL larutan ditambahkan larutan 2,5 mL g heksamin dalam 25,0 mL air, dicampurkan dan dibiarkan selama 24 jam. Sebanyak 15,0 mL suspensi

Tabel 1. Formulasi larutan pencuci mulut.

Bahan	Formulasi (%)				
	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV	Formula IV
EHP	1 bpj	2 bpj	4 bpj	8 bpj	18 bpj
Sorbitol	10	10	10	10	10
Propilen glikol	15	15	15	15	15
Natrium benzoat	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>Essence orange</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>Sunset yellow</i>	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Air suling ad	100	100	100	100	100

Pembuatan Larutan Pencuci Mulut. Sejumlah 50 mg EHP dilarutkan dengan air suling dalam labu tentukur 100 mL, sehingga diperoleh larutan induk EHP dengan konsentrasi 500 bpj. Larutan induk dipipet sesuai kebutuhan masing-masing formula dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Natrium benzoat dilarutkan dalam sebagian air suling, kemudian ditambahkan propilen glikol dan sorbitol, aduk hingga homogen (campuran I). Tambahkan *sunset yellow* dan *essence orange* ke dalam campuran I, diaduk hingga homogen (campuran II). Masing-masing labu tentukur yang berisi EHP diencerkan dengan campuran II. Tambahkan air suling hingga volume 100 mL.

Evaluasi Fisika dan Kimia. Evaluasi fisika dan kimia digunakan untuk uji stabilitas larutan pencuci mulut. Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan *climatic chamber* pada suhu ± 40 °C selama 1 bulan. Larutan pencuci mulut dibiarkan berkesetimbangan selama 3 hari pada suhu kamar, dilakukan evaluasi fisika dan kimia meliputi uji organoleptik, kejernihan, bobot jenis, dan pH. Uji aktivitas antimikroba dengan mengukur diameter daerah hambat (DDH).

Pemeriksaan Organoleptik. Pemeriksaan organoleptik meliputi warna, bau dan rasa. Pengamatan warna dilakukan secara visual terhadap larutan pencuci mulut yang dikemas dalam botol bening. Bau dari larutan pencuci mulut yang telah disimpan dalam wadah yang sesuai dengan cara membuka tutup botol dan mencium aromanya. Rasa dari larutan pencuci mulut diuji dengan cara mencicipi (berkumur) sesuai takaran.

Uji Kejernihan. Uji kejernihan diawali dengan pembuatan baku opalesen. Baku opalesen dibuat

diencerkan dengan air 1000 mL. Suspensi harus digunakan dalam waktu 24 jam setelah pembuatan. Suspensi padanan dibuat dengan formulasi pada Tabel 2⁽¹⁵⁾.

Tabel 2. Komposisi suspensi padanan baku opalesen

Bahan	Suspensi padanan			
	I	II	III	IV
Baku opalesen (mL)	5,0	10,0	30,0	50,0
Air (mL)	95,0	90,0	70,0	50,0

Penentuan kejernihan obat kumur dilakukan dengan membandingkan suspensi padanan baku dengan larutan uji (larutan pencuci mulut) yang dimasukkan dalam tabung reaksi alas datar dengan diameter 15-25 mm, tidak berwarna, transparan, dan terbuat dari kaca netral dengan latar belakang hitam kemudian diamati di bawah cahaya yang terdifusi, tegak lurus ke arah bawah tabung. Difusi cahaya harus sedemikian rupa sehingga suspensi padanan I dapat langsung dibandingkan dengan suspensi padanan II. Suatu cairan dinyatakan jernih jika kejernihannya sama dengan air atau pelarut yang digunakan bila diamati di bawah kondisi di atas atau jika okupalensinya tidak lebih nyata dari suspensi padanan I.

Uji Bobot Jenis. Penentuan bobot jenis menggunakan piknometer dan didasarkan pada perbandingan bobot cairan di udara pada suhu 25 °C terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang

sama. Larutan pencuci mulut yang suhunya telah diatur $\pm 25^\circ\text{C}$ dimasukkan ke dalam piknometer. Suhu piknometer yang telah diisi kemudian diatur hingga 25°C . Kelebihan zat uji dibuang kemudian ditimbang.

Bobot jenis dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Bobot jenis} = \frac{\text{bobot piknometer} + \text{zat} - (\text{bobot piknometer kosong})}{\text{bobot piknometer} + \text{air} - (\text{bobot piknometer kosong})}$$

Uji pH. Penentuan pH larutan pencuci mulut menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi. Larutan pencuci mulut yang akan diukur disiapkan. Elektrode pH meter dicelupkan sampai ujung elektroda tercelup ke dalam sediaan. pH yang didapat dicatat, pembacaan dilakukan 3 kali.

Uji Potensi Antibakteri Larutan Pencuci Mulut. Uji potensi antibakteri dilakukan pada setiap formula larutan pencuci mulut senyawa EHP, kontrol negatif larutan pencuci mulut tanpa senyawa EHP, serta kontrol positif berupa sediaan antiseptik obat kumur yang beredar di pasaran yaitu Listerin. Uji potensi antibakteri larutan pencuci mulut secara *in vitro* dengan mengukur Diameter Daerah Hambat (DDH) dari larutan pencuci mulut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. Metode yang dilakukan adalah difusi agar dengan menggunakan kertas cakram⁽¹⁶⁾.

Pembuatan Media Peremajaan untuk Mikroba Uji. Pembuatan Media Agar Miring. Media yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA). Bahan dicampur sambil dipanaskan hingga homogen. Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 5 mL lalu mulut tabung ditutup dengan kapas. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilkan dibiarkan pada posisi miring sampai memadat pada suhu kamar.

Pembuatan Media Cair. Untuk media cair digunakan kaldu pepton. Bahan dicampur sambil dipanaskan hingga homogen. Media yang telah homogen dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 5 mL dan mulut tabung ditutup dengan kapas. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media cair digunakan untuk penyiapan suspensi mikroba uji.

Peremajaan Mikroba Uji. Peremajaan dilakukan dengan menginokulasikan 1 ose mikroba uji ke dalam media miring *Nutrient Agar* (NA) untuk semua mikroba uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Pembuatan Suspensi Mikroba Uji. Biakan mikroba pada agar miring yang berumur 24 jam, diambil 1 ose mikroba menggunakan jarum ose atau sengkeli dan dimasukkan ke dalam 5 mL media kaldu

pepton, kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Suspensi mikroba diukur transmisinya menggunakan spektrofotometer UV-cahaya tampak dengan panjang gelombang 580 nm, hingga mempunyai harga transmittansi 25% T.

Pengujian Daya Hambat Senyawa EHP dalam Larutan Pencuci Mulut terhadap Mikroba Uji (Metode Difusi Agar). Suspensi mikroba uji 25% T sebanyak dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri steril, dan ditambahkan 15-20 mL media *Nutrient Agar* (NA). Campuran suspensi mikroba dengan media *Nutrient Agar* (NA) dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan petri secara perlahan, dan dibiarkan memadat pada suhu kamar selama 15-30 menit. Campuran yang telah memadat dimasukkan cakram yang telah dijenuhkan dengan larutan larutan pencuci mulut dengan berbagai konsentrasi ke dalam agar dan diinkubasi pada suhu $35-37^\circ\text{C}$ selama 18-24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur dengan satuan millimeter (mm). Zona bening disekitar cakram menunjukkan adanya daerah hambatan mikroba.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Larutan Pencuci Mulut Berbahan Aktif Senyawa EHP. Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan *climatic chamber* pada suhu $\pm 40^\circ\text{C}$ selama 1 bulan. Pengamatan dan evaluasi sediaan meliputi pemeriksaan organoleptik obat kumur, kejernihan, bobot jenis, dan pH sediaan. Formula larutan pencuci mulut dibuat dalam lima macam formula.

Pemeriksaan Organoleptik Larutan Pencuci Mulut. Pemeriksaan organoleptik yang dilakukan meliputi warna, bau dan rasa dari sediaan. Kelima komponen ini dibandingkan selama waktu penyimpanan. Hasil pemeriksaan organoleptik larutan pencuci mulut dapat dilihat dari Tabel 3 dan kenampakan fisik larutan pencuci mulut ditunjukkan Gambar 2. Uji stabilitas fisik dilakukan meliputi stabilitas warna, aroma, dan rasa dari obat kumur untuk mengetahui terjadi perubahan atau tidak terjadi perubahan secara fisik. Hasil uji stabilitas fisik menunjukkan bahwa pada minggu ke empat formula I; II; III; IV; dan V tidak mengalami perubahan baik warna, bau maupun aroma. Hal ini menandakan bahwa larutan pencuci mulut dengan formulasi tersebut stabil. Hasil pengamatan secara visual terlihat bahwa larutan pencuci mulut berwarna biru. Hal tersebut dikarenakan penambahan brilliant blue pada masing-masing formula obat kumur untuk meningkatkan ketertarikan pengguna. Sedangkan bau khas dari sediaan dihasilkan dari mentol yang ditambahkan

pada sediaan untuk meningkatkan kesukaan dan memberikan rasa segar pada saat digunakan.

penggunaan pelarut campur berupa propilen glikol, sorbitol, etanol serta sodium lauril sulfat sebagai

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik larutan pencuci mulut.

Minggu ke	Hasil Uji Organoleptik														
	Formula I			Formula II			Formula II			Formula IV			Formula V		
	W	A	R	W	A	R	W	A	R	W	A	R	W	A	R
1	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S
2	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S
3	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S
4	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S	B	K	S

Keterangan :

W : Warna

B : Biru

A : Aroma

K : Khas mentol

R : Rasa

S : Segar



Gambar 2. Foto fisik larutan pencuci mulut.

Uji Kejernihan Larutan Pencuci Mulut.

Kejernihan obat kumur ditentukan dengan cara memendarkan suatu berkas cahaya terfokus kedalam larutan obat kumur yang telah dibuat. Suatu sediaan dikatakan jernih jika jernihnya sama dengan air atau jika baku okupalensinya tidak lebih nyata dari suspensi padanan⁽¹⁵⁾. Hasil pengamatan uji kejernihan larutan pencuci mulut disajikan pada Tabel 4.

surfaktan yang digunakan untuk meningkatkan kelarutan EHP, sehingga didapatkan hasil pengujian kejernihan yang stabil. Natrium lauril sulfat merupakan surfaktan anionik yang bekerja dengan mekanisme solubilisasi miselar, yaitu dengan membentuk misel. Bila surfaktan cenderung ditambahkan ke dalam air pada konsentrasi rendah, surfaktan tersebut cenderung mengarah pada antar permukaan udara-cairan. Pada konsentrasi lebih tinggi, molekul surfaktan akan mulai membentuk agregat yang terarah (misel). Kemudian dengan adanya kosolvensi seperti sorbitol, etanol, propilen glikol dan ditambah air dapat meningkatkan kelarutan, dimana zat yang kurang polar dalam hal ini senyawa EHP dapat diinduksi polaritasnya menjadi lebih polar sehingga dapat larut dalam kosolven tersebut.

Uji Bobot Jenis Larutan Pencuci Mulut.

Penentuan bobot jenis menggunakan piknometer

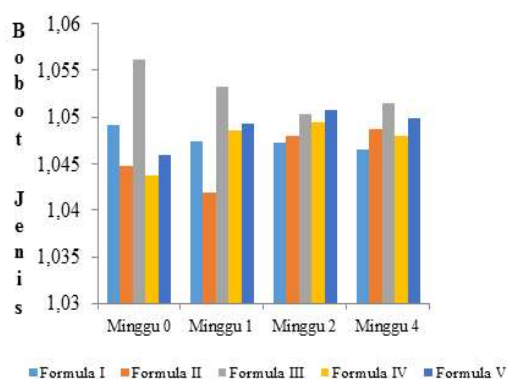
Tabel 4. Hasil pengujian uji kejernihan larutan pencuci mulut .

Minggu ke	Formula I		Formula II		Formula III		Formula IV		Formula V	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Berdasarkan hasil data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa tidak terdapat kekeruhan pada sediaan selama waktu penyimpanan, karena bahan-bahan dalam sediaan dapat larut sempurna. Hal ini disebabkan oleh

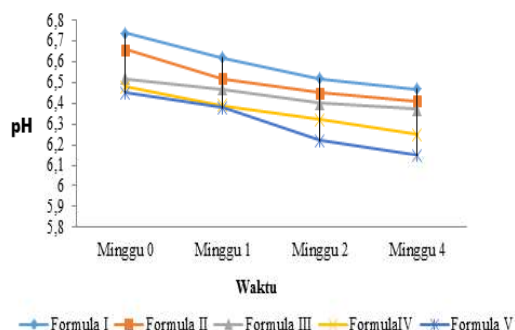
dan didasarkan pada perbandingan bobot cairan di udara pada suhu 25 °C terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Berikut hasil uji bobot jenis larutan pencuci mulut dapat dilihat pada

Gambar 3. Bobot jenis adalah rasio bobot suatu zat terhadap bobot zat baku yang volumenya sama pada suhu yang sama dan dinyatakan dalam desimal. Bobot jenis digunakan sebagai metode analisis yang untuk menentukan senyawa cair, uji identitas, dan kemurnian dari senyawa obat terutama cairan, serta dapat mengetahui tingkat kelarutan/daya larut suatu zat. Grafik pada Gambar 3 menunjukkan bahwa bobot jenis dari sediaan yang disimpan pada suhu 40 °C tidak mengalami perubahan yang signifikan selama penyimpanan. Selain itu karena kelima formula menggunakan air murni sebagai komponen utama pelarut, maka didapatkan nilai bobot jenis yang mendekati nilai bobot jenis air yaitu 1,00. Hasil analisis statistik dengan metode ANOVA satu arah diperoleh nilai $p = 0,862 > 0,05$, artinya waktu simpan tidak berpengaruh signifikan terhadap perubahan bobot jenis larutan pencuci mulut.



Gambar 3. Grafik bobot jenis pada suhu ±40 °C.

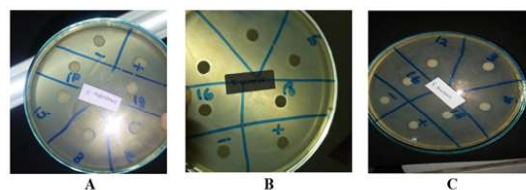
Analisis pH Larutan Pencuci Mulut. Hasil analisis pH larutan pencuci mulut ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik pH pada suhu ±40 °C

Hasil uji statistik pH selama 1 bulan menggunakan metode ANOVA satu arah untuk melihat pengaruh waktu simpan terhadap pH. Hasil analisis statistik diperoleh nilai $p = 0,026 < 0,05$, hipotesis nol diterima, artinya waktu simpan berpengaruh terhadap perubahan pH larutan pencuci mulut. Akan tetapi perubahan tersebut tidak signifikan dan masih dalam rentang standar pH obat kumur yaitu 6 – 7. pH ini merupakan kondisi pH yang aman untuk mulut, tidak bersifat asam yang dapat menyebabkan korosi pada gigi dan tidak pula bersifat basa yang dapat mengganggu pengecapan.

Uji Aktivitas Antimikroba Larutan Pencuci Mulut. Pengujian efektivitas secara *in vitro* dilakukan dengan metode difusi cakram. Efektivitas antibakteri ditunjukkan Gambar 5 dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram yang sudah mengandung larutan obat kumur yang akan diuji. Zona bening pada lapisan agar yang terbentuk karena senyawa antibakteri berdifusi ke dalam lapisan tersebut dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan lapisan agar yang ditumbuhi mikroorganisme akan tampak keruh.



Gambar 5. Diameter daya hambat larutan pencuci mulut pada bakteri A) *Candida albicans* B) *Staphylococcus aureus* C) *Streptococcus mutans*.

Hasil pengujian aktivitas antimikroba pada larutan pencuci mulut terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* berdasarkan Diameter Daya Hambat (DDH) dapat dilihat pada Tabel 5. Uji efektivitas antimikroba dilakukan untuk melihat kemampuan larutan pencuci mulut dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Hasil Uji menunjukkan bahwa formula 5 memiliki nilai Diameter Daerah Hambat (DDH) yang lebih besar dibandingkan formula yang lainnya. Hal ini dikarenakan pada Formula V konsentrasi senyawa EHP yang digunakan lebih besar yaitu 18 bpj dibandingkan Formula I (3 bpj), Formula II (6 bpj), Formula III (12 bpj), dan Formula IV (16 bpj). Konsentrasi EHP yang digunakan mempengaruhi aktivitas terhadap *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* dengan cara menghambat enzim transpeptidase yang menghubungkan D-alanil-D-alanil pada peptidoglikan dinding sel bakteri. Kontrol

negatif yang digunakan adalah larutan pencuci mulut tanpa penambahan senyawa EHP. Pengujian kontrol negatif dilakukan untuk memastikan senyawa EHP memiliki aktifitas antimikroba. Kontrol positif yang digunakan adalah larutan pencuci mulut yang telah beredar di pasaran yaitu listerin yang mengandung senyawa seperti chlorhexidin, mentol, timol, etanol, asam benzoat, metil salisilat. Pengujian kontrol positif dilakukan untuk membandingkan keefektifitasan obat kumur senyawa EHP dengan obat kumur *listerin* yang beredar dipasaran dengan cara dilakukan uji aktivitas antimikroba secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan larutan pencuci mulut pada formula F5 memiliki aktivitas yang hampir sama dengan sediaan *listerin* yang beredar di pasaran.

Tabel 5. Hasil pengujian aktivitas antimikroba.

Formula	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>
	DDH (mm)		
X	6	6	6
Y	8	9	7,2
F1	6,3	7	6,2
F2	6,7	7,7	6,6
F3	6,8	7,9	6,8
F4	7,4	8,3	7
F5	7,6	8,4	7,1

Keterangan :

X = Formula pembanding (tanpa senyawa EHP)

F1 = Formula dengan Konsentrasi senyawa EHP 3 bpj

F2 = Formula dengan Konsentrasi senyawa EHP 6 bpj

F3 = Formula dengan Konsentrasi senyawa EHP 12 bpj

F4 = Formula dengan Konsentrasi senyawa EHP 16 bpj

F5 = Formula dengan Konsentrasi senyawa EHP 18 bpj

Y = Sebagai kontrol positif (obat kumur dipasaran)

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa EHP dapat digunakan sebagai bahan antimikroba dalam larutan pencuci mulut. Formulasi larutan pencuci mulut dengan aktivitas terbaik ialah Formula V dengan konsentrasi EHP 18 bpj.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset dan Pendidikan Tinggi atas dana hibah penelitian yang telah diberikan melalui program

Penelitian Strategis Nasional Institusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Mumpuni E, Indriana P, Sulastris E, Rusnawan E. Synthesis and antioxidant test of 1,5-bis(3'-ethoxy-4'-hydroxyphenyl)-1,4-pentadiene-3-one (EHP). JIFI. 2010. 8:91-100.
- Mumpuni, E., Rahayu, L., Nurrochmad, A. Toksisitas dan antiinflamasi senyawa 1,5-bis(3'-etoksi-4'-hidroksifenil)-1,4-pentadien-3-on, JIFI . 2015. 13(1) : 45- 9
- Purwanggana A, Mumpuni E, Mulatsari E. In vitro and in silico antibacterial activity of 1,5-bis(3'-ethoxy-4'-hydroxyphenyl)-1,4-pentadiene-3-one. Int J. Pham Pham Sci. 2018. (10) 5 : 71 – 6.
- Krespi Y P, Shrim M G, and Kacker A. The relationship between oral malodor and volatile sulfur compound-producing bacteria. American Journal Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2005.09.036>
- Komariah A. *Staphylococcus aureus* (in vitro) Antibacterial activity of nano chitosan on *Staphylococcus aureus*. Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS Biologi , Sains , Lingkungan , dan Pembelajarannya. Surakarta 1 November 2015. 12 (1): 371– 7.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran edisi 20. Alih Bahasa Nugroho E, Maulany RF. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran 1986. Hal 153-7, 627-8.
- Power, J. M., dan Sakaguchi, R. I. Craig's Dental Materials 12th edition. 2006. Mosby Elsevier, St. Louis.p.
- Akande, et al. Efficacy of different brands of mouthwash rinses on oral bacterial loud count in healthy adults. African Journal of Biomedical Research. 2004. 7 : 125 - 8
- Phatak A.A, Patankar R.D, Galgatte U.C, et al. Antimicrobial activity of a poly-herbal extract against dental micro flora. Res J Pharm Bio Chem Sci. 2011. 2 (2) : 533 – 9.
- Banu J.N, and Gayathri V. Preparation of antibacterial herbal mouthwash against oral pathogens. Int J Curr Microbiol App Sci .2016. 5(11) : 205 – 21.
- Paula I.M, Moraes F.C, Souza O.V, and Yamamoto C.H. Development of mouthwash with *rosmarinus officinalis* extract. Brazilian J Pharm Sci. 2014. 50 (4) : 851 – 8.
- Kono S.R, Yamlean P.V.Y, dan Sudewi S. Formulasi larutan pencuci mulut herba patikan kebo (*Euphorbia hirta*) dan uji antibakteri *Prophyromonas gingivalis*. Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi-Unsrat. 2018. 7 (1) : 37-46.
- Venancio G.N, et al. Herbal mouthwash based on *libidibia ferrea*: microbiological control, sensory characteristics, sedimentation, pH and density. Rev Odontol unesp 2015. 44 (2) :118 – 24.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope

- Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; 1995. H.63-4, 529-0, 756-7, 998, 1039.
15. Hudzicki J. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. 2009. American Society for Microbiology.

Pengaruh *Crude* Fukoidan dari Ekstrak *Sargassum Crassifolium* Terhadap Kadar Icam-1 Dan Vcam-1 Pada Sel Raw 264.7 yang Diinduksi Lipopolisakarida

Anti-Inflammatory Activity of Crude Fucoidan From *Sargassum Crassifolium* Through Inhibition of Icam-1 and Vcam-1 in Lipopolysaccharide-Induced Raw 264.7 Cell

AYU WERAWATI^{1*}, ESTI MUMPUNI¹, KUSMARDI², DIAN RATIH LAKSMITAWATI¹,
SYAMSUDIN ABDILLAH¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta 12630

²Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

Diterima 8 Februari 2019, Disetujui 4 April 2019

Abstrak: Inflamasi adalah respon jaringan pembuluh darah terhadap infeksi dan jaringan yang rusak untuk menghilangkan penyebab inflamasi. Tapi dalam beberapa kondisi, inflamasi dapat menyebabkan timbulnya penyakit kronis, seperti aterosklerosis. Adesi leukosit ke endotelium vaskular merupakan ciri proses inflamasi. Adanya molekul adesi, seperti ICAM-1 dan VCAM-1 yang meningkat dapat menyebabkan adesi monosit dan limfosit pada sel endotel melalui ikatan molekul adesi pada sel endotel. *Crude* fukoidan berasal dari *Sargassum crassifolium* yang diambil dari perairan Garut dan diekstraksi dengan HCl encer, diuji aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan model sel RAW 264.7 yang diinduksi inflamasi dengan lipopolisakarida. Uji viabilitas dilakukan dengan metode MTT pada rentang konsentrasi 0,49-1000 µg/mL. Pola penghambatan proliferasi sel dipengaruhi oleh konsentrasi. Dari uji viabilitas didapat konsentrasi tertinggi yang menyebabkan viabilitas sel sebesar 80% adalah konsentrasi *crude* fukoidan 86,46 µg/mL. *Crude* fukoidan terbukti dapat menurunkan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada konsentrasi 50 dan 25 µg/mL. Persen penghambatan kadar ICAM-1 pada konsentrasi 50 µg/mL adalah 61,04% dibanding kontrol inflamasi dan 74,26% pada konsentrasi 25 µg/mL. Sementara persen penghambatan kadar VCAM-1 pada konsentrasi 50 µg/mL adalah 74,76% dibanding kontrol inflamasi dan 79,94% pada konsentrasi 25 µg/mL.

Kata kunci: *crude fukoidan*, *Sargassum crassifolium*, ICAM-1, VCAM-1, sel RAW 264.7.

Abstract: Inflammation is the response of vascular tissue to infection and damaged tissue to remove agents that cause inflammation. Macrophages are the dominant cells in the inflammatory reaction. Adhesion of leukocytes to vascular endothelium is a main feature of the inflammatory process. The presence of adhesion molecules, such as ICAM-1 and VCAM-1, can lead to adhesion of monocytes and lymphocytes to endothelial cells via bonding adhesion molecules to endothelial cells. Crude fucoidan derived from *Sargassum crassifolium* taken from Garut waters and extracted with dilute HCl, tested for anti-inflammatory activity through inhibition of ICAM-1 and VCAM-1 using lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cell models. The viability test was carried out in the concentration range of 0.49-1000 µg / mL. The pattern of inhibition of cell proliferation is influenced by concentration. The highest concentration that caused cell viability of 80% was the concentration of 86.46 µg / ml. Crude fucoidan reduced ICAM-1 and VCAM-1 levels at concentrations of 50 and 25 µg / ml. Percent inhibition of ICAM-1 at 50 µg / mL concentration was 61.04% compared to control and 74.26% at 25 µg / mL concentration. While the percent inhibition of VCAM-1 at 50 µg / mL concentration was 74.76% compared to control and 79.94% at 25 µg / mL concentration.

Keywords: *crude fucoidan*, *Sargassum crassifolium*, ICAM-1, VCAM-1, RAW 264.7 cells.

* Penulis korespondensi, Hp. 08158800410
e-mail: ayuwerawati@gmail.com

PENDAHULUAN

INDONESIA merupakan negara kepulauan dengan perbandingan antara daratan:lautan = 2:3, menjadikan Indonesia salah satu negara yang memiliki pantai terpanjang di dunia dan mendorong diperlukannya penelitian tentang hasil kekayaan laut Indonesia. Terdapat banyak jenis rumput laut yang bernilai ekonomis cukup tinggi di Indonesia, salah satu diantaranya *Sargassum sp* yang mengandung bahan alginat dan iodin yang digunakan pada industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil. *Sargassum sp.* mengandung senyawa-senyawa aktif steroida, alkaloida, fenol, dan triterpenoid⁽¹⁾. Kalium alginat, produk sampingan dari pengolahan rumput laut coklat, digunakan dalam kosmetik dan industri farmasi selama beberapa tahun terakhir sebagai eksipien atau pengental⁽²⁾.

Penelitian yang dilakukan oleh Asih et al pada tahun 2018 diketahui bahwa rumput laut coklat dari perairan Garut mengandung senyawa fukoidan. Fukoidan adalah polisakarida yang mengandung gugus sulfat berasal dari rumput laut coklat⁽³⁾. Fukoidan dilaporkan memiliki beragam aktivitas biologis, seperti antioksidan, antikoagulan, antitumor, antiviral dan antiinflamasi^(4,5).

Penelitian terhadap fukoidan yang berasal dari *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar pada model tikus radang yang diinduksi karagenan secara *in vivo* menunjukkan penghambatan inflamasi sebesar 68,19%⁽⁶⁾. Ekstrak metanol *Sargassum ilicifolium* dengan dosis 50-100 mg/kg secara *in vivo* memiliki aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme menghambat pembentukan edema pada tikus yang diinduksi karagenan⁽⁷⁾.

Penelitian yang dilakukan oleh Purukan et al pada tahun 2018 menunjukkan bahwa pemberian *crude* fukoidan dari *Sargassum polycistum* pada dosis 200 mg dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL, Trigliserida dan meningkatkan kadar HDL serum tikus putih jantan yang diberi pakan diet tinggi lemak selama 35 hari⁽⁸⁾.

Penelitian lain menunjukkan fukoidan dari *Laminaria japonica* secara signifikan dapat mengurangi pembentukan plak aterosklerotik dengan menurunkan lipid serum dan menghambat infiltrasi makrofag, serta menghambat pembentukan spesies oksigen reaktif/*reactive oxygen species* (ROS). Pemberian fukoidan secara signifikan dapat menurunkan ekspresi LOX-1 dan mediator proinflamasi *in vivo*. Secara *in vitro*, fukoidan menurunkan LOX-1, mediator proinflamasi serta molekul adhesi seperti *intercellular adhesion molecules* (ICAM-1) dan *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1). Penelitian terhadap

Sargassum serratifolium menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol *Sargassum serratifolium* pada makrofag RAW 264.7 yang distimulasi lipopolisakarida dapat menghambat produksi mediator inflamasi dan sitokin proinflamasi. Komponen antiinflamasi utama adalah sargahydroquinoic acid, sargachromenol dan *sargaquinoic acid*⁽⁹⁾.

Fukoidan dapat memiliki kesamaan bioaktivitas. Berdasarkan perbedaan varietas spesies kadang-kadang ada perbedaan aktivitas yang besar, contohnya fukoidan dari *Cladosiphon okamuranus* tidak menghambat adesi sel kanker payudara ke trombosit secara *in vitro*, sedangkan fukoidan dari spesies *Fucus vesiculosus* dapat menghambat adesi sel kanker payudara lebih dari 80%. Tikus yang dibuat model kanker usus besar dengan pemberian oral fraksi *Cladosiphon* dapat melemahkan pertumbuhan tumor⁽¹⁰⁾. Penelitian terhadap fukoidan dari tiga spesies alga coklat yang dipanen dalam waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan kuantitas dan struktur fukoidan yang diekstraksi, baik di antara spesies maupun dalam musim yang berbeda⁽¹¹⁾. Berdasarkan hal tersebut perlu standardisasi dan validasi senyawa fukoidan dari spesies tertentu untuk setiap pemberian dan dipahami mekanisme aksi utamanya

Inflamasi adalah respon jaringan pembuluh darah terhadap infeksi dan jaringan yang rusak, yang membawa sel dan molekul sistem imun ke tempat-tempat di mana mereka dibutuhkan untuk menghilangkan penyebab peradangan. Adesi leukosit ke endotelium vaskular merupakan ciri proses inflamasi. Mediator inflamasi yang dilepaskan akan meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga dapat membuat pelebaran pada endotel vaskuler. Melebarnya endotel akan menyebabkan ekstravasasi leukosit atau keluarnya leukosit dari pembuluh darah. Proses ekstravasasi sendiri meliputi marginasi yaitu menempelnya leukosit pada tepi pembuluh darah, kemudian leukosit berguling pada permukaan endotel (*rolling*) dan leukosit menempel kuat (adesi) pada permukaan endotel karena adanya molekul adhesi (ICAM-1 dan VCAM-1) yang diaktifkan oleh *Tumor necrosis factor* (TNF) dan Interleukin-1 (IL-1). Leukosit berpindah menembus membran basal sel endotel, dan bermigrasi sehingga leukosit menuju ke arah sumber inflamasi^(12,13).

Migrasi leukosit merupakan kunci penting dalam reaksi inflamasi, dimana migrasi ini dimungkinkan terjadi dengan adanya perlekatan leukosit dengan molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 pada permukaan endotel. Sehingga dapat dikatakan salah satu mekanisme antiinflamasi adalah melalui inhibisi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 yang diekspresikan oleh sel RAW 264.7.

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai crude fukoidan dari *Sargassum crassifolium* yang diperoleh dari perairan Garut, dengan melihat pengaruhnya terhadap kadar ICAM-1 dan VCAM-1. Penelitian dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sediaan uji yang digunakan adalah crude fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* yang diperoleh dari penelitian Suryani Asih. *Sargassum crassifolium* diperoleh dari Pantai Cicalobak, Desa Karang Wangi, Kecamatan Mekar Mukti, Kabupaten Garut, Jawa Barat. Pengambilan *Sargassum crassifolium* dilakukan pada bulan Oktober 2017.

Telah dilakukan determinasi tanaman di laboratorium Biologi Kelautan, Universitas Indonesia. Pembuatan ekstrak menggunakan HCL encer dengan cara maserasi kinetik pada suhu 80°C selama 6 jam. Ekstrak dikeringkan dengan *freeze drying*, sel RAW 264,7, RPMI, MTT, Lipopolisakarida, Mouse VCAM-1/CD106 (*Vascular cell adhesion molecule-1*) ELISA Kit *Elabscience*, Mouse ICAM-1/CD54 (*Intercellular adhesion molecule-1*) ELISA Kit *Elabscience*, bahan pereaksi lain : larutan dapar fosfat/*phosphate buffer saline* (PBS), *fetal bovine serum* (FBS), larutan Penisilin-Streptomisin Sigma-Aldrich, tripsin EDTA.

ALAT. Alat-alat gelas, plat 6 sumuran, plat 96 sumuran, inkubator Thermo scientific, sentrifus Sigma, *Universal microplate reader* ELX 800, *deep freezer Blue star*, *water bath*, *biosafety cabinet*, hemositometer.

METODE. Persiapan Kultur Sel. Sel RAW 264,7 ditumbuhkan dalam RPMI dengan suplementasi 10% FBS dan 1% larutan Penisilin-Streptomisin Sigma-Aldrich. Kultur sel diinkubasi pada suhu 37 °C, kondisi *humidified atmosphere* dan 5% CO₂ hingga sel konfluen. Sel RAW 264,7 yang telah konfluen ±70% kemudian dibuang medium lamanya dan dicuci menggunakan 2 mL larutan dapar fosfat/*phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 1x, kemudian sisa PBS dibuang. Medium tumbuh sebanyak 2 mL ditambahkan ke dalam sel, resuspensi sel kemudian dipindahkan ke dalam tabung 15 mL. Sel kemudian di sentrifus dengan kecepatan 2.500 rpm selama 4 menit. Supernatan selanjutnya dibuang dan pelet dire suspensi dengan 1 mL medium tumbuh untuk kemudian dihitung menggunakan hemositometer^(14,15).

Uji Viabilitas dengan menggunakan MTT. Sel RAW 264,7 sebanyak 100 µL ditanam dengan kepadatan 5.000 sel/sumuran dalam plat 96 sumuran kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C,

5% CO₂. Medium lama selanjutnya dibuang, dan sebanyak 90 µL medium kultur baru dan sebanyak 10 µL larutan crude fukoidan dengan konsentrasi 0,49; 0,98; 1,95; 3,91; 7,81; 15,63; 31,25; 62,50; 125; 250; 500 dan 1000 µg/ml, masing – masing 3 replikasi ditambahkan pada setiap sumuran. Sel tanpa penambahan senyawa uji (0 µg/mL) digunakan sebagai kontrol. Sel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, 5% CO₂. Setelah 24 jam sebanyak 10 µL MTT 5 mg/mL ditambahkan pada setiap sumuran, selanjutnya diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C, 5% CO₂. DMSO ditambahkan sebanyak 100 µL untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk. Absorbansi sampel kemudian dibaca menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 570 nm. Persentase viabilitas sel RAW 264.7 dihitung terhadap kontrol menggunakan rumus :

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Absorbansi (A) sampel}}{\text{Absorbansi (A) kontrol sel}} \times 100 \%$$

Pada uji viabilitas digunakan blangko yaitu medium pertumbuhan sel ditambahkan dengan crude fukoidan dan kontrol sel yaitu sel RAW 264,7 dalam medium pertumbuhan saja. Hasil uji viabilitas dengan metode MTT ini akan dipilih konsentrasi yang aman (konsentrasi ekstrak yang masih menyebabkan viabilitas sel RAW 264,7 ≥ 80%) untuk pengujian aktivitas antiinflamasi^(14,15).

Uji Aktivitas Antiinflamasi Crude Fukoidan dari Ekstrak *Sargassum Crassifolium*⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Kelompok kontrol normal: Sel RAW 264,7 ditempatkan dalam plat 6 sumuran sebanyak 5 x 10⁵ sel/sumuran dan diinkubasi pada suhu 37 °C dan 5% CO₂. Medium kultur kemudian dibuang dan pada sel ditambahkan 2000 µL medium tumbuh baru lalu inkubasi selama 24 jam pada 37°C dan 5% CO₂. Medium diambil dan disentrifus 2000 xg selama 20 menit. Supernatan diambil dan disimpan pada suhu -80° untuk selanjutnya digunakan pada pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan ELISA kit *Elabscience*.

Kelompok kontrol inflamasi: Sel RAW 264,7 ditempatkan dalam plat 6 sumuran sebanyak 5 x 10⁵ sel/sumuran dan diinkubasi pada suhu 37 °C dan 5% CO₂. Medium kultur kemudian dibuang dan pada sel ditambahkan 1800 µL medium tumbuh baru lalu inkubasi selama 2 jam. Sebanyak 200 µL lipopolisakarida ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran dan inkubasi selama 24 jam pada 37 °C dan 5% CO₂. Medium diambil dan disentrifus 2000 xg selama 20 menit. Supernatan diambil dan disimpan pada suhu -80° untuk selanjutnya digunakan pada pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan ELISA kit *Elabscience*.

Kelompok uji: Sel RAW 264,7 ditempatkan

dalam plat 6 sumuran sebanyak 5×10^5 sel/sumuran dan di inkubasi pada suhu 37°C dan $5\% \text{CO}_2$. Medium kultur kemudian dibuang dan ditambahkan 1600 μL medium tumbuh baru dan 200 μL larutan senyawa uji masing-masing dengan konsentrasi senyawa uji 25 dan 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ medium kemudian inkubasi selama 2 jam. Sebanyak 200 μL lipopolisakarida ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran dan inkubasi selama 24 jam pada 37°C dan $5\% \text{CO}_2$. Medium diambil dan disentrifus 2000 xg selama 20 menit. Supernatan diambil dan disimpan pada suhu -79° untuk selanjutnya digunakan pada pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan ELISA kit *Elabscience*.

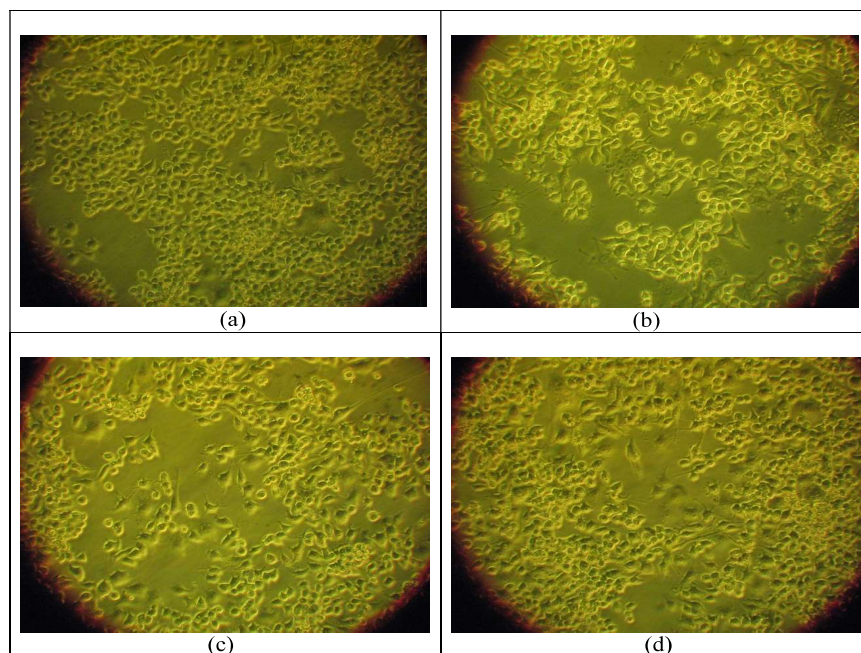
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum dilakukan uji aktivitas antiinflamasi, terlebih dahulu perlu dilakukan uji viabilitas terhadap sel RAW 264,7. Pengujian viabilitas dilakukan dengan metode MTT. Prinsip metode MTT adalah pewarnaan, yaitu mereduksi garam monotetrazolium yang berwarna kuning dan larut dalam air oleh enzim *suksinat dehidrogenase* yang diproduksi oleh sel hidup menjadi menjadi produk akhir kristal biru formazan yang tidak larut air. Warna biru yang terbentuk diukur kepekatannya dengan ELISA reader. Uji viabilitas perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium*

terhadap viabilitas sel RAW 264,7 dan untuk menentukan konsentrasi *crude* fukoidan yang aman dan tidak toksik untuk digunakan pada saat pengujian aktivitas antiinflamasi

Konsentrasi *crude* fukoidan yang diberikan pada pengujian ini terdiri dari 12 rentang konsentrasi yaitu dari 0,49 hingga 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Mulai dari perlakuan *crude* fukoidan konsentrasi 7,81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pola penghambatan dipengaruhi oleh konsentrasi atau *dose dependent manner*, sehingga semakin tinggi konsentrasi *crude* fukoidan yang diberikan viabilitas sel semakin menurun.

Untuk menentukan dosis yang aman untuk pengujian aktivitas antiinflamasi dibuat persamaan garis regresi antara log dosis sebagai x dan persentase viabilitas sebagai y. Persamaan garis yang diperoleh dari uji viabilitas adalah $y = -8,2195x + 95,935$, sehingga untuk mendapatkan viabilitas di bawah 80% maka konsentrasi tertinggi yang digunakan pada pengujian antiinflamasi adalah 86,4661 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pada pengujian ini, *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* yang digunakan adalah konsentrasi 50 dan 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Konsentrasi ini sesuai dengan penelitian terhadap fukoidan yang dilakukan oleh Wang *et al.* Fukoidan yang diisolasi dari *Laminaria japonica* dengan ekstraksi asam, pada uji antiinflamasi dengan model sel RAW 264,7 yang diinduksi LPS, fukoidan pada dosis 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$



Gambar 1. Kultur sel RAW 264,7 (a) Kelompok sel normal (b) Kelompok kontrol inflamasi (c) Kelompok perlakuan pemberian fukoidan konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (d) Kelompok perlakuan pemberian fukoidan konsentrasi 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Tabel 1. Hasil uji viabilitas *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium*.

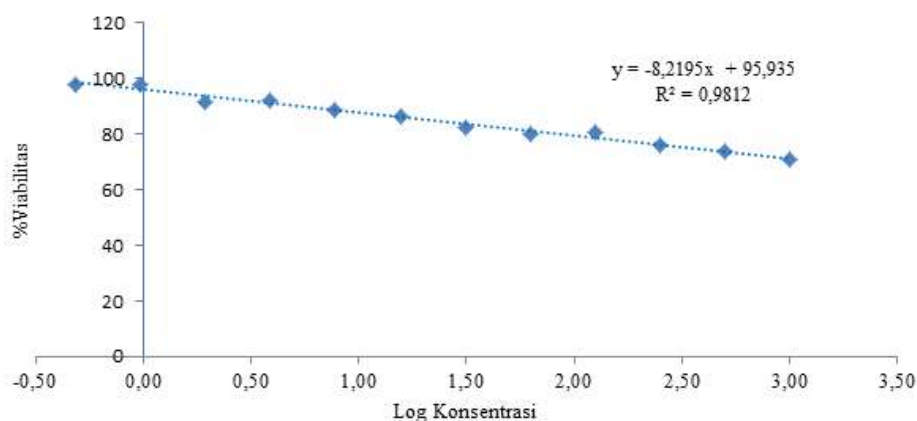
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log konsentrasi	Penghambatan proliferasi (%)	Viabilitas sel (%)
Kontrol Normal			100
0,49	-0,31	2,21	97,790
0,98	-0,01	1,97	98,027
1,95	0,29	8,37	91,634
3,91	0,59	7,97	92,028
7,81	0,89	11,21	88,792
15,63	1,19	13,58	86,425
31,25	1,49	17,84	82,163
62,50	1,80	19,89	80,110
125,00	2,10	19,26	80,742
250,00	2,40	23,99	76,006
500,00	2,70	26,20	73,796
1000,00	3,00	28,89	71,113

dapat menekan ekspresi gen IL-1 β , IL-6, dan TNF- α dan juga menekan ekspresi gen LOX-1, ICAM-1, dan VCAM-1⁽¹⁷⁾.

Pada penelitian ini aktivitas antiinflamasi *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* diamati melalui pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 yang disekresikan oleh sel RAW 264,7. Sel RAW 264,7 merupakan sel makrofag, dan sel makrofag merupakan sel yang berperan penting dalam proses inflamasi. Mediator inflamasi yang dilepaskan akan meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga dapat membuat pelebaran pada endotel vaskuler. Melebarnya endotel akan menyebabkan ekstrasvasi leukosit dan melekatnya leukosit (adesi) pada permukaan endotel

karena adanya molekul adhesi (ICAM-1 dan VCAM-1). Oleh karena itu profil inflamasi dapat dilihat melalui pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada sel RAW 264,7. Lipopolisakarida secara teoritis dapat menginduksi terjadinya inflamasi sehingga lipopolisakarida pada penelitian ini digunakan untuk menginduksi terjadinya inflamasi pada sel RAW 264,7.

Pengukuran absorbansi larutan standar dilakkan untuk menentukan kurva baku ICAM-1 dan VCAM-1. Dari hasil kurva baku tersebut dibuat persamaan regresi linier untuk menentukan kadar ICAM-1 dan VCAM berdasarkan nilai absorbansi pada masing-masing perlakuan. Kemudian data kadar

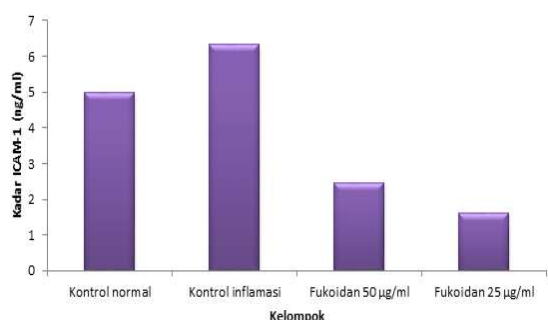
Gambar 2. Kurva hasil uji viabilitas *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium*.

Tabel 2. Kadar dan persen inhibisi ICAM-1.

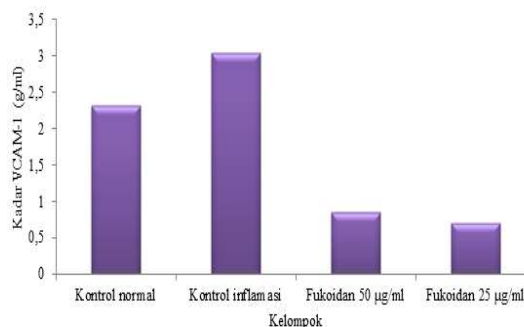
Perlakuan	Kadar ICAM-1 (ng/mL)	Inhibisi kadar ICAM-1 (%)
Kontrol normal	4,97 ± 0,66 ^a	21,36 ± 10,42
Kontrol inflamasi	46,32 ± 0,49 ^b	
Crude fukoidan konsentrasi 50 µg/mL	2,46 ± 0,56 ^c	21,36 ± 10,42
Crude fukoidan konsentrasi 25 µg/mL	1,63 ± 0,23 ^c	74,26 ± 19,40

Data berupa kadar rata-rata±SD

Perbedaan huruf a,b,c menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok berdasarkan uji post hoc Duncan



Gambar 3. Grafik kadar ICAM-1



Gambar 4. Grafik kadar VCAM-1

ICAM-1 dan VCAM-1 digunakan untuk menentukan persentase inhibisi ICAM-1 dan VCAM-1 pada kelompok perlakuan dengan sediaan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol inflamasi.

Setelah pemberian *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* terdapat perbedaan signifikan antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, menunjukkan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* mampu menurunkan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 sehingga dapat dinyatakan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* memiliki aktivitas antiinflamasi berdasarkan penurunan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Uji secara statistik menyebutkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar ICAM-1 antara kelompok yang diberi perlakuan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* konsentrasi 50 µg/mL (kadar 2,46 ng/mL) dan konsentrasai 25 µg/mL (kadar 1,63

ng/mL) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (kadar 4,97 ng/mL) dan kelompok kontrol inflamasi (kadar 6,32 ng/mL). Hasil yang sama juga ditunjukkan pada kadar VCAM-1, pada kelompok yang diberi perlakuan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* konsentrasi 50 µg/mL (kadar 0,75 ng/mL) dan konsentrasai 25 µg/mL (kadar 0,60 ng/mL) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (kadar 2,24 ng/mL) dan kelompok kontrol inflamasi (kadar 2,98 ng/mL).

Setelah pemberian *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* terdapat perbedaan signifikan antara kelompok yang diberi sediaan uji dan kelompok yang tidak diberi sediaan uji sehingga dapat dinyatakan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* memiliki efek antiinflamasi melalui penurunan kadar ICAM-1 dan VCAM-1. Namun penghambatan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada konsentrasi 50 µg/mL tidak lebih tinggi dari konsentrasi 25 µg/mL. Hal ini

Tabel 3. Kadar dan persen inhibisi VCAM-1

Perlakuan	Kadar VCAM-1 (ng/mL)	Inhibisi kadar VCAM-1 (%)
Kontrol normal	2,24 ± 0,54 ^a	24,73 ± 18,06
Kontrol inflamasi	2,98 ± 0,42 ^b	
Crude fukoidan konsentrasi 50 µg/mL	0,75 ± 0,20 ^c	74,76 ± 6,87
Crude fukoidan konsentrasi 25 µg/mL	0,60 ± 0,37 ^c	79,94 ± 12,53

Data berupa kadar rata-rata±SD

Perbedaan huruf a,b,c menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok berdasarkan uji *post hoc* Duncan

dimungkin karena *crude* fukoidan memiliki aktivitas ganda. Fucooidan juga memiliki aktivitas sebagai imunomodulator yang dapat menstimulasi perbaikan imunitas pada tubuh.

Fucooidan dapat memicu THP-1 dengan meningkatnya kadar TNF α , IL-12. Fucooidan juga menginduksi produksi dari interleukin-1 (IL-1) dan IFN- γ secara *in vitro*, peningkatan fungsi dari Limfosit T, sel B, makrofag dan sel NK serta memberikan respon antibodi utama di *Sheep Red Blood Cells* (SRBC) secara *in vivo*⁽¹⁸⁾. Berdasarkan hasil penelitian tersebut fucooidan dapat berfungsi efektif sebagai imunomodulasi dan imunoprevensi terhadap kanker payudara. Beberapa penelitian lainnya menyebutkan bahwa ekstrak ganggang cokelat memiliki aktivitas imunostimulan yang ditandai dengan meningkatnya kadar mediator proinflamasi seperti NO, TNF- α , IL-1 β , dan IL-6⁽¹⁹⁾.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka diduga *crude* fukoidan yang diujikan pada penelitian ini memiliki aktivitas ganda. *Crude* fukoidan pada konsentrasi rendah menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan molekul adesi ICAM-1 dan VCAM-1. Sementara pada konsentrasi tinggi menunjukkan aktivitas imunomodulator melalui peningkatan kadar TNF dan IL yang secara tidak langsung menyebabkan tidak terjadi inhibisi pada molekul adesi ICAM-1 dan VCAM-1.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* mempunyai aktivitas antiinflamasi pada konsentrasi rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menunjukkan fucooidan dari *Laminaria japonica* secara signifikan dapat menurunkan ekspresi LOX-1 dan mediator proinflamasi *in vivo*. Secara *in vitro*, fucooidan menurunkan LOX-1, mediator proinflamasi serta molekul adhesi seperti *intercellular adhesion molecules* (ICAM-1) dan *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) (3). Serta penelitian lain terhadap *Sargassum serratifolium* yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol *Sargassum serratifolium* pada makrofag RAW 264,7 yang distimulasi lipopolisakarida dapat menghambat produksi mediator inflamasi dan sitokin proinflamasi.

SIMPULAN

Crude fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* yang dikumpulkan pada bulan Oktober 2017 dari Pantai Cicalobak, Kabupaten garut, Jawa Barat, memiliki aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada sel RAW 264.7 yang diinduksi inflamasi dengan lipopolisakarida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Simlitabmas Kemenristek Dikti melalui Hibah Tim Pascasarjana yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pakidi CS, Suwoyo HS. Potensi dan pemanfaatan bahan aktif alga cokelat *Sargassum sp.* Octopus. 2016;5(2):488–98.
2. Nurul Falah R. Preparasi dan karakterisasi nanopartikel *crude* fucooidan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum polycystum*) dan uji aktivitas antiplatelet secara *in vitro*. Prep dan karakterisasi nanopartikel *crude* fucooidan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum polycystum*) dan uji Akt antiplatelet secara Vitro. 2017.
3. Asih S. Uji aktivitas antiplatelet fucooidan dari rumput laut coklat (*Sargassum crassifolium*) yang diperoleh dari perairan Garut dengan waktu panen yang berbeda. 2018.
4. Udani J. The potential use of fucooidans from brown seaweed as a dietary supplement. J Nutr Food Sci [Internet]. 2012;02(10):1–6. Available from: <https://www.omicsonline.org/2155-9600/2155-9600-2-171.digial/2155-9600-2-171.html>
5. Cumashi A, Ushakova NA, Preobrazhenskaya ME, D’Incecco A, Piccoli A, Totani L, et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucooidans from brown seaweeds. Glycobiology. 2007;17(5):541–52.
6. Phull A, Majid M, Haq I, Rashid M, Ja S. International Journal of Biological Macromolecules In vitro and in vivo evaluation of anti-arthritis, antioxidant efficacy of fucooidan from *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar. Int J Biol Macromol [Internet]. 2017;97:468–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.051>
7. Simpi CC, Nagathan C V, Karajgi SR, Kalyane N V. Evaluation of marine brown algae *Sargassum ilicifolium* extract for analgesic and anti-inflammatory activity. 2013;5(3).
8. Juliana A Purukan, Kusmardi, Bambang Ponco Priosoeryanto, Dian Ratik Laksmiawati S. Perbandingan profil lipid pada tikus putih jantan yang diberi *crude* fucooidan yang diinduksi diet tinggi lemak. 2019.
9. Joung EJ, Gwon WG, Shin T, Jung BM, Choi JS, Kim HR. Anti-inflammatory action of the ethanolic extract from *Sargassum serratifolium* on lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages and identification of active components. J Appl Phycol. 2017;29(1):563–73.
10. Fitton JH, Stringer DN, Karpinić SS. Therapies from fucooidan: An update. Mar Drugs. 2015;13(9):5920–46.
11. Fletcher HR, Biller P, Ross AB, Adams JMM. The seasonal variation of fucooidan within three species of

- brown macroalgae. *Algal Res* [Internet]. 2017;22:79–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.10.015>
12. Klingenberg R, Hansson GK. Treating inflammation in atherosclerotic cardiovascular disease: Emerging therapies. *Eur Heart J*. 2009;30(23):2838–44.
 13. Jones DP, True HD, Patel J. Leukocyte trafficking in cardiovascular disease: insights from experimental models. *Mediators of Inflammation*. 2017.
 14. Laksmiawati DR, Prasanti AP, Larasinta N, Syauta GA, Hilda R, Ramadaniati HU, et al. Anti-inflammatory potential of gandarusa (<i>Gendarussa vulgaris</i> Nees) and Soursoop (<i>Annona muricata</i> L) Extracts in LPS Stimulated-Macrophage Cell (RAW264.7). *J Nat Remedies* [Internet]. 2016;16(2):73. Available from: <http://www.informaticsjournals.com/index.php/jnr/article/view/5367>
 15. Sandhiutami NMD, Moordiani M, Laksmiawati DR, Fauziah N, Maesaroh M, Widowati W. In vitro assesment of anti-inflammatory activities of coumarin and indonesian cassia extract in RAW264.7 murine macrophage cell line. *Iran J Basic Med Sci*. 2017;20(1):99–106.
 16. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides* [Internet]. 2015;72:4–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.012>
 17. Wang X, Pei L, Liu H, Qv K, Xian W, Liu J, et al. Fucoidan attenuates atherosclerosis in LDLR^{-/-} Mice Through Inhibition of Inflammation and Oxidative Stress. *Int J Clin Exp Pathol*. 2016;9(7):6896–904.
 18. Satyarsa ABS, Education M, Program S. Potential of Fucoidan from Brown Seaweeds (*Sargassum* sp.) as innovation therapy on breast cancer studi pustaka: potensi fucoidan dari rumput laut coklat (*Sargassum* sp.) sebagai inovasi terapi pada kanker payudara. 2019;2(3):909–19.
 19. Yang JW, Yoon SY, Oh SJ, Kim SK, Kang KW. Bifunctional effects of fucoidan on the expression of inducible nitric oxide synthase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;346(1):345–50.

Pembuatan Dan Pengujian Kondisioner Rambut Menggunakan Lendir Dari Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)

(Preparation and Evaluation of Hair Conditioner Using Mucus of Hibiscus Leaves (*Hibiscus rosa-sinensis* L.))

HAMIDAH SRI SUPRIATI*, IRHAM PRATAMA RIDWAN

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Manado

Diterima 25 Januari 2019, Disetujui 4 April 2019

Abstrak: Banyak tanaman hias yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis salah satunya adalah kembang sepatu yang merupakan tanaman berasal dari Asia Timur. Kondisioner merupakan salah satu sediaan semi padat yang dimaksudkan untuk pemakaian luar dengan cara dioleskan pada bagian rambut setelah penggunaan shampo. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan sediaan kondisioner yang menggunakan lendir daun bunga sepatu sebagai bahan aktif. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan penggunaan lendir dari daun Kembang Sepatu sebagai bahan aktif yang akan bermanfaat sebagai pelembut rambut pada sediaan kondisioner. Pembuatan kondisioner dilakukan dengan mencampurkan fase minyak dan fase air yang dilebur terlebih dahulu. Bahan-bahan yang akan digunakan yaitu dimetikon, setil alkohol, asam stearat, TEA, gliserin, metil paraben, propil paraben dan aquadest. Uji stabilitas fisik yang dilakukan adalah uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH dan uji tipe krim dengan variasi konsentrasi lendir daun kembang sepatu yaitu 15%, 20%, 25% dan 30%, serta sebagai pembanding adalah formulasi sediaan kondisioner tanpa menggunakan lendir kembang sepatu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembuatan kondisioner dengan variasi konsentrasi lendir daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dan pengujian stabilitas fisiknya formula 4 menunjukkan hasil yang stabil dan bertekstur lebih lembut. Kesimpulan yang diperoleh bahwa formula 1, 2, 3 dan 4 telah memenuhi persyaratan sediaan semi padat.

Kata Kunci : Lendir daun kembang sepatu, kondisioner, pengujian stabilitas fisik.

Abstract: Many ornamental plant growing in tropical and subtropical regions one is Hibiscus which is a native plant from East Asia. Conditioner is one of semi solid preparation used to hair after using shampoo. The porpose of the research is getting formulation hair conditioner from Hibiscus with various concentration. This research is a descriptive analytic in the laboratory. Conditioner making with mix oil phase and melted water. The indredients to be use are dimethicone, sethyl alcohol, stearic acid, TEA, glycerin, methyl paraben, propyl paraben and aquadest. Physical stability tests carried out were organoleptic test, homogeneity test, pH test and cream type test with various concentrations of hibiscus leaf mucus which were 15%, 20%, 25% and 30%, and as a comparison were the formulations of conditioner preparations without using hibiscus mucus . The results showed that the manufacture of conditioner with variations in the concentration of mucilage of hibiscus leaves (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and physical stability testing on formula 4 shows stable and softer textured results. The conclusion obtained is that formulas 1, 2, 3 and 4 have met the requirements of semi-solid preparations.

Keywords: Hibiscus leaf mucus, conditioner, physical stability testing.

* Penulis korespondensi, Hp. 085244505450
e-mail: luv.akp@gmail.com

PENDAHULUAN

RAMBUT merupakan tampilan karakteristik dari mamalia yang menutupi seluruh permukaan tubuh. Rambut memiliki dua fungsi dasar, yaitu menjaga temperatur tubuh agar konstan dan sebagai organ sensori. Rambut tumbuh dari akar rambut yang ada di dalam lapisan dermis kulit dan melalui saluran folikel rambut keluar dari kulit. Bagian rambut yang keluar dari kulit dinamakan batang rambut. Sebagian populasi di dunia mengalami permasalahan rambut kusam atau susah diatur. Adanya pengaruh iklim tropis, polusi, kebiasaan hidup, serta penggunaan penutup kepala seperti jilbab maupun helm yang dapat menyebabkan rambut kering dan kusam. Kesadaran untuk merawat rambut memang tidak setinggi kesadaran untuk merawat kulit wajah(1).

Kembang sepatu merupakan tanaman yang berasal dari Asia Timur, yang banyak ditanam sebagai tanaman hias yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Kembang sepatu mempunyai bunga yang indah dan berbagai warna yaitu ada yang berwarna merah, merah muda, putih dan kuning. Pada bagian daun kembang sepatu berwarna hijau yang memiliki bentuk daun bertangkai, bulat telur, meruncing, kebanyakan tidak berlekuk, bergerigi kasar, dengan ujung runcing dan pangkal bertulang daun menjari(2).

Bagian daun, bunga dan akar kembang sepatu mengandung flavonoid. Daun mengandung saponin dan polifenol, dan taraksetil asetat. Selain itu, bunga kembang sepatu mengandung cyanidin diglucosid, hibisetin dan zat pahit(3). Kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) berkhasiat sebagai pelembut kulit, peluruh dahak dan penurun panas. Sedangkan daunnya mengandung saponin, polifenol dan taraksetil asetat yang berguna sebagai obat sakit panas, batuk, sariawan, bronkhitis, gonorhoea, gondok dan sakit kepala(2).

Secara tradisional daun kembang sepatu dapat dimanfaatkan sebagai kosmetik. Seperti halnya yang dilakukan oleh kalangan remaja yang mencoba membuat ramuan pelembut rambut dari perasan daun kembang sepatu kemudian dioleskan pada rambut.



Gambar 1. *Hibiscus rosa-sinensis* L

Kembang sepatu diduga dapat memberikan manfaat untuk melembutkan dan menghaluskan rambut dengan membuat sediaan dalam bentuk kondisioner(3)

Bagian daun, bunga dan akar mengandung flavonoid. Daun mengandung saponin dan polifenol dan taraksetil asetat. Selain itu, bunga kembang sepatu mengandung cyanidin diglucosid, hibisetin dan zat pahit(4).

Tanaman bunga kembang sepatu berkhasiat sebagai obat demam pada anak-anak, obat batuk dan obat sariawan. Bagian bunga juga dimanfaatkan Atas pemikiran tersebut sehingga melatar belakangi untuk dilakukan penelitian pembuatan kondisioner dari lendir daun kembang sepatu yang memenuhi persyaratan dalam ketentuan.

Kandungan kimia untuk mengatasi disentri, infeksi saluran kemih, bisul dan melancarkan haid. Pada bagian daun yang menghasilkan lendir dapat digunakan untuk perawatan rambut antara lain untuk menghaluskan rambut,

BAHAN DAN METODE

Dasar Formula. Menurut Ernest W. Flick(5), dasar formula sediaan kondisioner terdiri atas komponen dasar sediaan krim meliputi : fase minyak, fase air, emulgator dan komponen tambahan.

Tabel 1. Persyaratan bahan yang diperbolehkan.

No.	Bahan	Konsentrasi(%)
1.	Dimetikon	0,5-5
2.	Setil alkohol	2-5
3.	Asam stearat	1-20
4.	Trietanolamin	2-4
5.	gliserin	≤30
6.	Metil paraben	0,02-0,3
7.	Propil paraben	0,01-0,6
8.	Aquadest	Ad 100

Rancangan Formula.

Tabel 2. Rancangan Formula sediaan kondisioner dari daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L)

No.	Bahan Fungsi	Fungsi	Konsentrasi (%)				
			F1	F2	F3	F4	F5
1	Lendir daun Kembang Sepatu	Zat Aktif	-	15	20	25	30
2	Dimetikon	Konditioning Agent	6	6	6	6	6
3	Setil Alkohol	Emulgator	3	3	3	3	3
4	Asam Stearat	Pengemulsi	7	7	7	7	7
5	Trietanolamin	Pengemulsi	4	4	4	4	4
6	Gliserin	Humektan dan emolient	20	20	20	20	20
7	Metil Paraben	Pengawet fase air	00.02	00.02	00.02	00.02	00.02
8	Propil Paraben	Pengawet fase minyak	00.02	00.02	00.02	00.02	00.02
9	Aquadest	Pembawa	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Keterangan : F1 = Formula 1 ; F2 = Formula 2 ; F3 = Formula 3 ;

F4 = Formula 4 ; F5 = Formula 5.

Pengujian Sediaan Kondisioner. Adapun pengujian sediaan kondisioner untuk mengetahui stabilitas fisik sediaan kondisioner yang dilakukan selama 14 hari meliputi antara lain :

Uji Organoleptik. Pengamatan sediaan kondisioner dilakukan dengan mengamati segi bentuk, warna, bau, dan tekstur kondisioner.

Uji Homogenitas. Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan menggunakan mikroskop pembesaran 12 kali. Sejumlah tertentu kondisioner dioleskan pada kaca objek dan diamati adanya pemisahan antara air dan minyak atau ketidak homogenan.

Uji pH. Pengujian pH krim menggunakan kertas pH indikator universal. Diambil sedikit sampel sediaan formula kondisioner daun kembang sepatu, lalu dilarutkan dengan sedikit aquadest. Dioleskan sampai merata pada semua bagian kertas pH. Diamati perubahan warna yang ditunjukkan pada kertas pH universal.

Uji Tipe krim. Guna memastikan formula kondisioner hasil penambahan lendir daun kembang sepatu, masih sesuai dengan tipe krim yang diharapkan yaitu minyak dalam air (m/a) perlu dilakukan pengujian tipe krim. Pengujian tipe emulsi dilakukan dengan metode pengenceran yaitu dengan mengencerkan dengan air. Jika air akan terdispersi cepat dalam krim, maka hasilnya sesuai dengan tipe krim yang akan dibuat yaitu minyak dalam air (m/a).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun kembang sepatu merupakan salah satu tanaman berkhasiat yang digunakan sebagai tanaman obat untuk kesehatan, juga bermanfaat sebagai perawatan rambut. Kandungan kimia yang terkandung di dalam lendir daun kembang sepatu yaitu saponin yang bermanfaat sebagai pelembut rambut.

Pada penelitian ini kondisioner yang dibuat

sebanyak 12 pot @30 gram dengan menggunakan 4 konsentrasi lendir daun kembang sepatu yang berbeda yaitu 15%, 20%, 25% dan 30%. Pembuatan kondisioner lendir daun kembang sepatu yaitu pertama diambil daun kembang sepatu yang sudah dibersihkan kemudian dihaluskan dan disaring untuk menghasilkan lendir sebanyak 48,90 gr. Kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur untuk masing-masing formula. Selanjutnya fase minyak dan fase air, masing-masing fase dilebur. Kemudian fase minyak dimasukkan ke dalam fase air gerus ad homogen. Selanjutnya dimasukkan lendir daun kembang sepatu sedikit demi sedikit sampai terbentuk basis krim. Setelah itu kondisioner dilakukan pengujian organoleptik, homogenitas, pH dan tipe krim.

Pengujian sediaan kondisioner lendir daun kembang sepatu dilakukan untuk mengetahui sediaan kondisioner yang dibuat dapat digunakan. Pengujian kondisioner lendir daun kembang sepatu terdiri atas uji stabilitas fisik yaitu Uji Organoleptik, uji homogenitas, uji pH dan uji tipe krim.

Hasil uji organoleptik pada kondisioner lendir daun kembang sepatu pada formula 1 menunjukkan sediaan berbentuk setengah padat, bertekstur lembut, berwarna putih dan bau khas krim. Pada formula 2 dan 3 menghasilkan warna hijau tua serta berbau khas lendir daun kembang sepatu dan bertekstur lembut, sedangkan untuk formula 4 dan 5 menunjukkan perbedaan pada tekstur sediaan yaitu lebih lembut yang disebabkan oleh variasi konsentrasi penambahan dari lendir kembang sepatu yang lebih banyak dibandingkan formula 1,2 dan 3.

Hasil uji homogenitas sediaan kondisioner bertujuan untuk mengetahui homogenitas sediaan yang diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran lensa 12x. Pada pengujian homogenitas yang telah dilakukan, kondisioner tercampur homogen dilihat dari partikel-partikel minyak yang tersebar secara merata, sehingga dapat dikatakan bahwa sediaan

Tabel 3. Hasil pengujian kondisioner lendir daun kembang sepatu.

Formula	Uji Organoleptik				Uji pH	Uji Homogenitas	Uji Tipe Krim
	Bentuk	Tekstur	Warna	Bau			
Formula 1	A. Semi padat	Lembut	Putih	Khas Krim	7,13	Homogen	ME A
	B. Semi padat	Lembut	Putih	Khas Krim	7,27	Homogen	ME A
	C. Semi padat	Lembut	Putih	Khas Krim	7,30	Homogen	ME A
Formula 2	A. Semi padat	Lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,27	Homogen	ME A
	B. Semi padat	Lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,30	Homogen	ME A
	C. Semi padat	Lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,23	Homogen	ME A
Formula 3	A. Semi padat	Lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,23	Homogen	ME A
	B. Semi padat	Lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,27	Homogen	ME A
	C. Semi padat	Lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,23	Homogen	ME A
Formula 4	A. Semi padat	Lebih lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,23	Homogen	ME A
	B. Semi padat	Lebih lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,30	Homogen	ME A
	C. Semi padat	Lebih lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,27	Homogen	ME A
Formula 5	A. Semi padat	Lebih lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,37	Homogen	ME A
	B. Semi padat	Lebih lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,33	Homogen	ME A
	C. Semi padat	Lebih lembut	Hijau Tua	Khas lendir	7,40	Homogen	ME A

kondisioner lendir daun kembang sepatu memenuhi persyaratan.

Hasil uji pH sediaan kondisioner lendir daun kembang sepatu yaitu memiliki pH 7 setelah 2 minggu dilakukan kembali pengujian pH dan pH formula masih tetap sama atau stabil yang sesuai dengan persyaratan, pH sediaan semi padat yang baik adalah 4-8. Jadi dapat disimpulkan bahwa sediaan kondisioner tetap stabil dan memenuhi persyaratan.

Pengujian terakhir untuk sediaan kondisioner lendir daun kembang sepatu yaitu uji tipe krim. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemudahan untuk digunakan yang dilakukan dengan metode pengenceran yang dengan mengencerkan sediaan menggunakan air. Hasil uji tipe krim yang telah dilakukan, kondisioner dapat terdispersi atau tercampur dengan baik dilihat dari fase minyak dan fase air yang tidak terpisah. Setelah 2 minggu dilakukan kembali pengujian tipe krim dan hasil tetap sama atau stabil maka dapat disimpulkan hasilnya sesuai dengan persyaratan.

Berdasarkan uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH dan uji tipe krim yang telah dilakukan, serta stabilitas menunjukkan ke 12 sediaan kondisioner dengan konsentrasi lendir daun kembang sepatu yang berbeda yaitu formula 1 tanpa lendir daun kembang sepatu, formula 2 dengan konsentrasi lendir daun kembang sepatu 15%, formula 3 dengan konsentrasi lendir daun kembang sepatu 20%, formula 4 dengan konsentrasi lendir daun kembang sepatu 25%, formula 5 dengan konsentrasi lendir daun kembang sepatu 30% menunjukkan hasil yang stabil dan memenuhi persyaratan.

SIMPULAN

Lendir daun kembang sepatu dapat diformulasikan menjadi sediaan kondisioner yang memenuhi persyaratan uji stabilitas fisik. Hasil pengujian kondisioner lendir daun kembang sepatu yang didapat yaitu memiliki warna, bau, tekstur, homogenitas, nilai pH dan tipe krim yang memenuhi persyaratan.

SARAN

Diharapkan sediaan kondisioner lendir daun kembang sepatu yang telah dibuat dapat dilakukan penelitian selanjutnya berupa penelitian pada hewan uji atau dibuat bentuk sediaan lainnya yang berhubungan dengan perawatan rambut. Dilakukan publikasi jurnal penelitian agar pemanfaatan tanaman asli Indonesia semakin banyak dikenal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mitsui, T. *New cosmetic science*. Amsterdam. Elsevier Science. 1993.
2. Dalimartha, Dr. Setiawan. *Atlas tumbuhan obat Indonesia jilid I*, Jakarta. 1999.
3. Syamsuhidayat, SS., dan Hutapea, J. 1991, *Inventaris tanaman obat Indonesia, jilid I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Jakarta. 1991.
4. Markham, KR. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung. 1988.
5. Flick, Ernest W. *Cosmetics & Toiletry formulation Handbook Edisi 2, vol.8*, USA. 2000.

Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Antihipertensi di Instalasi Rawat Jalan RSUD Dr. Soegiri Lamongan Periode Tahun 2017

(Rationality Evaluation of Antihypertension Drug Use in Dr. Soegiri Hospital Lamongan at 2017)

DIAN SA'IDAH*, HAJAR SUGIHANTORO, ABDUL HAKIM, SITI MAIMUNAH

**Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim, Malang.**

Diterima 29 November 2018, Disetujui 4 April 2019

Abstrak: Hipertensi adalah penyakit tidak menular yang ditandai dengan tekanan darah yang meningkat mencapai angka >140/90 mmHg. Hipertensi ini menjadi faktor risiko utama dalam menyebabkan penyakit kardiovaskular lainnya. Angka kejadian hipertensi beserta komplikasinya terus meningkat setiap tahun sehingga potensi adanya ketidakrasionalan penggunaan obat juga semakin meningkat. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui rasionalitas penggunaan obat antihipertensi di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Soegiri Lamongan periode tahun 2017 ditinjau dari segi tepat indikasi, tepat pasien, tepat obat, dan tepat dosis. Penelitian ini merupakan penelitian observasional yang dilakukan dengan metode deskriptif dan menggunakan data retrospektif yaitu lembar rekam medis pasien hipertensi tahun 2017. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *proportional stratified random sampling*. Dari jumlah total 451 rekam medis pasien hipertensi, jumlah sampel yang digunakan yaitu 82 rekam medis dimana terdapat 269 lembar resep didalamnya. Data-data yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan menggunakan literatur *American Society of Hypertension (ASH)* tahun 2013 dan *Hypertension Clinical Guidelines* tahun 2017. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rasionalitas penggunaan obat antihipertensi di RSUD Dr. Soegiri Lamongan periode tahun 2017 yaitu tepat indikasi 100%; tepat pasien 91,82%; tepat obat 88,85%; dan tepat dosis 98,14%.

Kata kunci: Hipertensi, obat antihipertensi, evaluasi rasionalitas.

Abstract: Hypertension is a non-communicable disease characterized by increased blood pressure that reaches >140/90 mmHg. The incidence of hypertension and its complications continues to increase every year so the potential for irrational use of drugs is also increasing. The purpose of this study was to determine the rationality of the use of antihypertensive drugs at the outpatient installation of Hospital Dr. Soegiri Lamongan in the 2017 period, which reviews the exact indication, the right patient, the right drug, and the right dosage. This study is an observational study conducted by descriptive method and uses retrospective data, namely medical record sheets of hypertensive patients in 2017. The sampling method used was proportional stratified random sampling. The study population was 451 medical records of hypertensive patients, the number of samples used was 82 medical records where there were 269 prescription sheets in it. The data obtained are then compared using the 2013 American Society of Hypertension (ASH) literature and 2017 Hypertension Clinical Guidelines. The results showed that the rationality of the use of antihypertensive drugs in Dr. Soegiri Lamongan Hospital in 2017 period is 100% accurate on indications, 91.82 % right on patients, 88.85% right on drugs, and 98.14% right on dosages.

Keywords: Hypertension, antihypertensive drugs, rationality evaluation.

*Penulis korespondensi: Hp :-
e-mail: diansaidah54@gmail.com

PENDAHULUAN

HIPERTENSI didefinisikan sebagai penyakit tidak menular dimana keadaan ini ditandai dengan tekanan darah yang meningkat hingga angka lebih dari 140/90 mmHg secara persisten. Hipertensi ini umumnya disebabkan oleh adanya kombinasi dari berbagai keadaan (multifaktorial). Beberapa hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa terjadinya hipertensi ini disebabkan adanya faktor keturunan, ketegangan jiwa, dan faktor lingkungan serta makanan (kandungan garam yang tinggi atau asupan kalium yang rendah yang dimungkinkan berperan sebagai kontributor berkembangnya hipertensi(1).

Penyakit hipertensi merupakan salah satu faktor risiko terbesar penyebab morbiditas dan mortalitas pada penyakit kardiovaskular. Penyakit hipertensi juga dapat mengakibatkan infark miokard, *stroke*, gagal ginjal, bahkan kematian(2). Hipertensi kerap kali disebut dengan *silent killer* karena pada umumnya pasien tidak mengetahui bahwa mereka menderita penyakit hipertensi sebelum memeriksakan tekanan darahnya, serta hipertensi umumnya tidak menimbulkan suatu tanda atau gejala apapun sebelum terjadi komplikasi(3).

Sekitar 1 miliar orang, yaitu sekitar seperempat dari seluruh populasi orang dewasa di dunia menyandang hipertensi, dan jumlah ini cenderung meningkat. Pada tahun 2025, diperkirakan penderita hipertensi akan meningkat mencapai angka 1,6 miliar. Menurut Riset Kesehatan Dasar tahun 2007, hipertensi menjadi penyebab utama kematian semua umur setelah *stroke* dan tuberkulosis dengan proporsi kematian 6,8%(4). Data dari Riset Kesehatan Dasar tahun 2013 juga menunjukkan adanya peningkatan prevalensi hipertensi pada tahun 2007 menuju tahun 2013 yaitu dari angka 7,6% menjadi 9,5%(5).

Penggunaan obat yang rasional mengharuskan pasien menerima pengobatan sesuai dengan kebutuhan klinis, dalam dosis yang diperlukan tiap individu, dalam kurun waktu tertentu, dan dengan biaya yang paling rendah. Evaluasi penggunaan obat sangatlah penting dilakukan oleh apoteker dengan tujuan untuk menjamin ketepatan persepsan dan penggunaan obat, *cost effectiveness*, serta untuk meningkatkan kualitas

pelayanan kesehatan ditinjau dari segi tepat diagnosis, tepat indikasi, tepat pasien, tepat obat, tepat dosis, tepat informasi, tepat harga, tepat cara dan lama pemberian, serta waspada efek samping(6).

Tabel 1. Cara perhitungan sampel *proportional stratified*.

Bulan	Jan	Feb	Mar	April	Mei	Juni	Juli	Agust	Sept	Okt	Nov	Des
Sampel	$\frac{81 \times 82}{451} = 15$	$\frac{40 \times 82}{451} = 7$	$\frac{52 \times 82}{451} = 10$	$\frac{39 \times 82}{451} = 7$	$\frac{35 \times 82}{451} = 6$	$\frac{20 \times 82}{451} = 4$	$\frac{29 \times 82}{451} = 5$	$\frac{34 \times 82}{451} = 6$	$\frac{35 \times 82}{451} = 6$	$\frac{33 \times 82}{451} = 6$	$\frac{19 \times 82}{451} = 4$	$\frac{34 \times 82}{451} = 6$

RSUD Dr. Soegiri Lamongan merupakan rumah sakit tipe B dimana sering dijadikan rumah sakit rujukan utama oleh masyarakat kabupaten Lamongan. Hasil survei awal di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Soegiri Lamongan pada bulan Januari 2018 menunjukkan bahwa dalam periode 2017 jumlah kasus hipertensi yaitu sebanyak 751 kasus. Hipertensi beserta komplikasinya selalu menduduki urutan teratas penyakit tidak menular di RSUD Dr. Soegiri Lamongan dan jumlah kasusnya semakin meningkat tiap tahunnya. *Hypertension Heart Disease* (HHD) merupakan salah satu contoh komplikasi hipertensi yang jumlah kasusnya semakin meningkat dalam 3 tahun terakhir yaitu sebanyak 4599 kasus di tahun 2015, 4904 kasus di tahun 2016, dan sebanyak 5134 kasus di tahun 2017.

Semakin tinggi jumlah kasus hipertensi beserta komplikasinya maka jumlah penggunaan obat antihipertensi juga akan semakin meningkat, sehingga potensi terjadinya ketidakrasionalan penggunaan obat pun juga semakin tinggi. Berdasarkan hal inilah yang mendorong peneliti untuk mengetahui kerasionalan penggunaan obat antihipertensi yang telah diberikan sebelumnya pada pasien hipertensi di RSUD Dr. Soegiri Lamongan secara kualitatif dengan melihat dari sisi tepat indikasi, tepat pasien, tepat obat, dan tepat dosis.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Rekam medis pasien yang terdiagnosa utama hipertensi di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Soegiri Lamongan pada periode tahun 2017 dengan atau tanpa penyakit penyerta.

METODE. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret - April tahun 2018 di RSUD Dr. Soegiri Lamongan. Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian observasional yang dilakukan dengan metode deskriptif. Pengambilan data dikumpulkan secara retrospektif yaitu menggunakan lembar rekam medis pasien hipertensi rawat jalan tahun 2017. Metode pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *proportional stratified random sampling*. *Stratified* dilakukan dengan mengelompokkan sampel berdasarkan bulan pasien masuk rumah sakit. Selanjutnya sampel diambil secara *random* dengan proporsi yang seimbang sesuai dengan jumlahnya dalam populasi (Tabel 1). Seluruh populasi yang memenuhi kriteria penelitian yaitu rekam medis

pasien yang terdiagnosa utama hipertensi di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Soegiri Lamongan pada periode tahun 2017 dengan atau tanpa penyakit penyerta dan rekam medis yang lengkap dan terbaca. Evaluasi obat yang diteliti yakni memiliki batasan hanya pada obat hipertensi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah sampel. Jumlah sampel yang didapatkan dengan menggunakan rumus Slovin yaitu sejumlah 82 rekam medis dari jumlah total 451 rekam medis pasien hipertensi pada tahun 2017. Diketahui bahwa dalam sebagian besar rekam medis tersebut terdapat lebih dari 3 resep sehingga jumlah total resep dalam 82 rekam medis yaitu sebanyak 269 lembar resep.

Karakteristik Responden berdasarkan Jenis Kelamin. Jenis kelamin merupakan salah satu faktor risiko terjadinya hipertensi yang tidak dapat diubah. Pada penelitian ini pasien wanita lebih mendominasi dibandingkan pasien pria (Tabel 2). Mekanisme pengaruh perbedaan jenis kelamin terhadap regulasi tekanan darah belum diketahui secara detail, namun banyak penelitian yang mengaitkannya dengan sistem hormonal dalam tubuh. Hormon estrogen merupakan hormon yang turut mempengaruhi perkembangan penyakit hipertensi, dimana estrogen ini berperan dalam meningkatkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL). Kadar HDL yang tinggi merupakan faktor pelindung dari terjadinya aterosklerosis, yang mana aterosklerosis ini dapat menyebabkan terjadinya hipertensi.

Efek perlindungan estrogen dianggap sebagai penjelasan adanya imunitas wanita pada masa sebelum menopause. Pada masa menopause hormon estrogen semakin rendah kuantitasnya. Menurunnya kadar estrogen yang melindungi pembuluh darah dari kerusakan inilah yang menjadi salah satu faktor yang menyebabkan wanita rentan terkena penyakit kardiovaskular(2).

Tabel 2. Karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin.

Jenis kelamin	Σ Rekam Medis	Persentase (%)
Wanita	44	53,66
Pria	38	46,34
Jumlah	82	100

Tabel 3. Karakteristik responden berdasarkan usia.

Kelompok usia	Σ Rekam Medis	Persentase (%)
<45 tahun	3	3,66
45-60 tahun	38	46,34
>60 tahun	41	50
Jumlah	82	100

Karakteristik Responden berdasarkan Usia.

Usia responden dalam penelitian ini dikategorikan menjadi tiga kelompok yaitu usia dewasa <45 tahun, usia pertengahan (*middle age*) 45-60 tahun, dan lanjut usia >60 tahun. Jumlah rekam medis dari masing-masing kelompok usia dapat dilihat pada Tabel 3.

Hipertensi merupakan salah satu penyakit degeneratif. Semakin bertambahnya usia maka akan terjadi beberapa perubahan fisiologis dalam tubuh seperti penurunan elastisitas pembuluh darah dan perubahan struktur pembuluh darah besar yang menyebabkan lumen menjadi lebih sempit serta dinding pembuluh darah yang menjadi lebih kaku sehingga mengakibatkan tekanan darah meningkat(7).

Karakteristik Responden berdasarkan Komplikasi dan Penyakit Penyerta. Pada penelitian ini, penyakit komplikasi merupakan penyakit baru yang muncul akibat tingkat keparahan hipertensi ataupun penyakit yang merupakan faktor risiko dimana dapat memperparah kondisi hipertensi, serta penyakit yang berkaitan dengan kardiovaskular. Sedangkan penyakit penyerta yaitu penyakit yang muncul sebelum, bersamaan, ataupun sesudah pasien mengalami hipertensi, serta tidak berhubungan dengan kardiovaskular. Jumlah kasus komplikasi dan penyakit penyerta dalam penelitian ini disajikan dalam Tabel 4.

Peningkatan kadar lipid sangat erat kaitannya dengan aterosklerosis. Hal ini dikarenakan lipid merupakan faktor penting dalam terjadinya aterosklerosis. Tingginya kadar lipid dalam darah akan mempengaruhi siklus metabolisme lemak itu sendiri sehingga hal ini dapat menyebabkan dislipidemia. Terjadinya dislipidemia dapat

Tabel 4. Karakteristik responden berdasarkan komplikasi dan penyakit penyerta.

Kategori	Jenis penyakit	Σ Kasus	Persentase (%)
Komplikasi	Dislipidemia	14	38,89
	CVA infark	12	33,33
	PJK	5	13,89
	CKD	4	11,11
	TIA	1	2,78
	Total (n=36)	36	100
Penyakit penyerta	DM	20	40
	OA	6	12
	PNP	4	8
	Vertigo	3	6
	Gastritis	3	6
	Gout	2	4
	DII	12	24
Total (n=50)	50	100	

menyebabkan aterosklerosis dalam arteri yang selanjutnya mengakibatkan tahanan perifer pembuluh darah akan meningkat sehingga tekanan darah juga akan meningkat(8).

Hipertensi jangka panjang juga dapat menyebabkan CVA (*Cerebro Vaskular Accident*) infark atau yang biasa dikenal dengan istilah *stroke*. *Stroke* terjadi apabila pembuluh darah arteri dalam otak mengalami hipertropi atau penebalan sehingga aliran darah ke daerah otak akan berkurang yang selanjutnya akan menyebabkan terjadinya aterosklerosis melalui efek penekanan pada sel endotel dan mengakibatkan pembentukan plak pada pembuluh darah semakin cepat. Akibatnya aliran darah ke daerah-daerah yang dilalui termasuk otak akan berkurang sehingga otak tidak akan mendapat suplai oksigen yang cukup. Kurangnya suplai oksigen inilah yang menyebabkan *stroke*(9).

Penyakit penyerta yang banyak diderita pasien yaitu diabetes mellitus (DM) yaitu sebanyak 20 kasus (40,0%). Diabetes mellitus merupakan salah satu faktor risiko dalam terjadinya hipertensi. Dimana pada pasien diabetes terjadi perubahan metabolik yaitu hiperglikemia dan pengeluaran asam lemak bebas berlebih yang dapat menyebabkan penurunan availabilitas *Nitrit Oxide* (NO) yang diproduksi oleh endotelium pembuluh darah. NO adalah suatu molekul kimia yang dapat memodulasi otot vaskular sehingga menyebabkan vasodilatasi. Apabila terjadi gangguan fungsi endotel vaskular, maka produksi NO akan berkurang sehingga akan memicu terjadinya vasokonstriksi(10).

Gambaran Distribusi Penggunaan Obat Antihipertensi. Terapi yang digunakan pasien hipertensi di RSUD Dr. Soegiri Lamongan sangat bervariasi mulai dari monoterapi hingga kombinasi 2-5 obat antihipertensi. Variasi pengobatan ini bersifat individual berdasarkan kondisi klinis pasien karena suatu obat terkadang memberikan efek yang tidak sama pada satu individu dengan individu lainnya (Tabel 5).

Tabel 5. Variasi terapi penggunaan obat antihipertensi di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Soegiri Lamongan tahun 2017.

Variasi terapi	Σ Kasus	Persentase (%)
Monoterapi	110	40,89
2 Kombinasi	117	43,49
3 Kombinasi	33	12,27
4 Kombinasi	8	2,97
5 Kombinasi	1	0,37
Total	269	100

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui bahwa variasi terapi yang paling banyak digunakan di RSUD Dr. Soegiri Lamongan periode 2017 yaitu dua kombinasi obat antihipertensi (43,49%) dimana kombinasi ini terdiri dari golongan CCB+ACEI. Menurut Sargowo (2012), kombinasi antara golongan CCB dengan ACEI/ARB ini telah menunjukkan efek penurunan tekanan darah yang lebih besar dibandingkan dengan penggunaan monoterapi. Kombinasi ini juga telah menunjukkan penurunan tekanan darah yang efektif pada pasien hipertensi dengan gagal ginjal tanpa mempengaruhi fungsi renal yang tersisa(11). Dalam jurnal meta analisis dinyatakan bahwa kombinasi antara ACEI/ARB dengan CCB lebih menguntungkan dibandingkan dengan kombinasi obat antihipertensi lainnya dengan menunjukkan hasil lebih rendah dalam kejadian kardiovaskular dan efek samping yang merugikan(12).

Pernyataan ini juga diperkuat oleh Syamsudin (2011) yang menyebutkan bahwa kombinasi CCB dan ACEI/ARB menunjukkan suatu efek perlindungan ginjal serta memicu pengurangan massa ventrikel kiri sehingga penggunaan kedua obat ini bermanfaat bagi pasien DM ataupun pasien penyakit ginjal(13). Tingginya penggunaan kombinasi CCB+ACEI ini sudah tepat dilihat dari banyaknya responden dalam penelitian ini yang memiliki penyakit penyerta DM sehingga kombinasi ini menjadi pilihan utama dalam pengobatan.

Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Antihipertensi. Evaluasi rasionalitas dalam penelitian ini dihitung berdasarkan tiap lembar resep yang diterima oleh pasien, sehingga resep sebelum dan sesudahnya tidak mempengaruhi penilaian ketepatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada 82 rekam medis yang menjadi obyek penelitian, diketahui bahwa dalam sebagian besar rekam medis tersebut terdapat lebih dari 3 resep sehingga jumlah total resep dalam 82 rekam medis yaitu sebanyak 269 lembar resep.

Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Antihipertensi berdasarkan Tepat Indikasi. Evaluasi ketepatan indikasi merupakan suatu proses penilaian terhadap pemilihan obat yang sesuai dengan kebutuhan pasien didasarkan pada diagnosa yang ditegakkan berdasarkan alasan medis(14). Dikatakan tepat indikasi apabila pemberian obat sesuai dengan gejala yang dirasakan pasien dan diagnosis yang telah ditegakkan.

Pada penelitian ini ketepatan indikasi pada penggunaan obat antihipertensi didasarkan pada ketepatan dalam memutuskan pemberian obat antihipertensi yang sepenuhnya berdasarkan alasan medis, yaitu jika tekanan darah pasien berada

pada angka $>140/90$ mmHg. Penggunaan obat dikategorikan tepat indikasi apabila obat yang diresepkan sesuai dengan diagnosa adanya penyakit hipertensi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan nilai dari ketepatan pemilihan obat antihipertensi berdasarkan tepat indikasinya yaitu mencapai 100%. Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Salwa (2013) mengenai evaluasi penggunaan obat antihipertensi di instalasi rawat inap RS Dr. Moewardi pada tahun 2010 dengan jumlah sampel sebanyak 50 rekam medis menghasilkan ketepatan indikasi sebesar 100%.

Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Antihipertensi berdasarkan Tepat Pasien. Ketepatan pasien adalah ketepatan pemilihan obat yang didasarkan dengan mempertimbangkan keadaan pasien secara individu sehingga tidak menimbulkan kontraindikasi(14). Evaluasi ketepatan pasien pada penelitian ini dilakukan dengan membandingkan kontraindikasi obat yang diberikan dengan kondisi pasien dimana dilihat dari penyakit komplikasi yang sedang diderita pasien ataupun jika ada riwayat alergi yang tertera di rekam medis.

Penelitian yang telah dilakukan pada 269 lembar resep pasien hipertensi yang disesuaikan dengan standar *American Society of Hypertension* (ASH) tahun 2013 menunjukkan hasil evaluasi rasionalitas penggunaan obat berdasarkan ketepatan pasien yaitu sebanyak 22 lembar resep dinyatakan tidak tepat pasien (8,18%) dan sebanyak 247 lembar resep sisanya dinyatakan tepat pasien (91,82%). Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Sumawa (2015) tentang evaluasi rasionalitas berdasarkan tepat pasien dirawat inap RSUP Prof. Kandou Manado yaitu dengan jumlah sampel 39 rekam medis dan menggunakan standar JNC 7 disebutkan bahwa jumlah yang tepat pasien sebesar 100%. Ketidaktepatan pasien pada penelitian ini terjadi pada kasus pasien dengan penyakit komplikasi hiperlipidemia dan diabetes mellitus.

Adanya ketidaktepatan pasien dalam penelitian ini disebabkan oleh obat yang diberikan tidak sesuai dengan kondisi klinis pasien, yaitu sebanyak 3 resep (13,64%) bisoprolol diberikan pada pasien hipertensi dengan komplikasi hiperlipidemia dan 14 resep (63,64%) pada pasien DM, serta sejumlah 5 resep (22,73%) furosemid diberikan pada pasien hipertensi dengan penyakit penyerta DM. Pengobatan dalam resep tersebut dinilai tidak tepat obat dikarenakan bisoprolol dan furosemid tidak direkomendasikan dalam literatur ASH tahun 2013 untuk hipertensi dengan komplikasi hiperlipidemia ataupun penyakit penyerta DM.

Golongan β -Blocker memiliki efek samping dapat meningkatkan kadar trigliserida serta menurunkan kolesterol HDL(7). Golongan ini juga dapat memperburuk toleransi glukosa darah serta dapat mengganggu respons metabolik terhadap hipoglikemia sehingga penggunaan pada pasien hipertensi dengan DM ataupun pasien dengan risiko tinggi diabetes sebaiknya dihindari. Penggunaan furosemid dalam kasus ini juga dinilai tidak tepat karena furosemid mempunyai aktifitas diuretik yang cenderung kuat sehingga dapat mengurangi aktifitas obat antidiabetik dan akan meningkatkan potensi menurunnya fungsi ginjal jika digunakan untuk pengobatan hipertensi jangka panjang pada pasien DM yang rentan terkena penyakit ginjal kronis(15).

Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Antihipertensi berdasarkan Tepat Obat. Pemberian obat dikatakan tepat apabila jenis obat yang dipilih berdasarkan pertimbangan besarnya manfaat dan risiko dikarenakan pengobatan tersebut bersifat individual dengan memperhatikan bahwa efek obat terkadang tidak sama bagi setiap individu(16). Evaluasi ketepatan obat dalam penelitian ini dinilai berdasarkan kesesuaian pemilihan. Hasil dalam penelitian ini diketahui bahwa dari 269 resep sebanyak 30 resep (11,14%) dinilai tidak tepat obat dan 239 resep lainnya (88,85%) dinilai tepat obat. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Yulanda (2017) di Puskesmas Sukabumi dengan jumlah sampel 96 resep dan rekam medis menghasilkan nilai ketepatan dosis sebesar 97,9%. Ketidaktepatan obat pada penelitian ini terjadi pada kasus penggunaan obat yang tidak sesuai algoritma, yakni pasien hipertensi *stage 2* mendapatkan pengobatan tunggal.

Ketidaktepatan obat dalam penelitian ini terjadi dikarenakan adanya kombinasi obat yang tidak tepat dan pemilihan variasi terapi yang tidak sesuai dengan algoritma dalam literatur yang digunakan yaitu ASH. Sebanyak 29 resep (96,67%) kondisi pasien mengalami hipertensi *stage 2* namun pengobatannya hanya menggunakan monoterapi obat antihipertensi. Hal ini dinilai tidak tepat dikarenakan dalam ASH disebutkan bahwa kombinasi obat diberikan kepada pasien hipertensi *stage 1* yang gagal mencapai target tekanan darah dan pasien hipertensi *stage 2* sehingga jika terdapat pasien dengan hipertensi *stage 2* namun hanya mendapatkan monoterapi maka dinilai tidak tepat obat.

Adapun ketidaktepatan lainnya terjadi pada 1 resep (3,33%) yaitu karena adanya kombinasi antara kaptopril dengan lisinopril dimana kedua obat ini merupakan satu golongan yaitu ACEI. Hal ini dinilai tidak tepat dikarenakan kombinasi obat

antihipertensi sebaiknya dipilih dari golongan yang berbeda, dimulai dari dosis yang lebih rendah untuk meningkatkan keefektifan dan mengurangi potensi terjadinya efek samping(17).

Evaluasi Rasionalitas Penggunaan Obat Antihipertensi berdasarkan Tepat Dosis. Dosis merupakan salah satu aspek yang paling penting dalam menentukan efikasi obat. Apabila dosis yang diberikan terlalu rendah atau di bawah rentang terapi, maka efek terapi yang diharapkan tidak akan tercapai, begitu juga sebaliknya apabila dosis yang diberikan terlalu tinggi terutama jika obat tersebut memiliki rentang terapi sempit maka akan sangat berisiko untuk menimbulkan overdosis(6). Dalam penelitian ini dinilai tepat dosis apabila dosis yang diberikan tidak kurang dan tidak lebih dari rentang yang ditentukan dalam literatur *hypertension clinical guidelines* tahun 2017(18).

Hasil dalam penelitian ini diketahui bahwa dari 269 resep sebanyak 5 resep (1,86%) dinilai tidak tepat dosis dan 234 resep lainnya (98,14%) dinilai tepat dosis. Kasus yang terjadi pada ketidaktepatan dosis adalah pasien hanya menerima pengobatan tunggal (bisoprolol) dengan dosis yang kurang. Dosis bisoprolol yang diterima pasien < 2,5 mg dalam sehari, yakni hanya 1 x ½ tablet sedangkan menurut literatur *Hypertension Clinical Guidelines* tahun 2017 dosis minimal bisoprolol dalam sehari yaitu 2,5 mg dan dosis maksimalnya 10 mg.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada 82 rekam medis (269 lembar resep) pasien hipertensi di instalasi rawat jalan RSUD Dr. Soegiri Lamongan periode tahun 2017, maka kesimpulan yang dapat diambil yaitu hasil evaluasi rasionalitas penggunaan obat antihipertensi berdasarkan tepat indikasi sebesar 100%. Evaluasi rasionalitas berdasarkan tepat pasien sebesar 91,82% dengan nilai tidak tepat pasien sebesar 8,18%. Ketidaktepatan pasien ini terjadi pada kasus pasien dengan penyakit komplikasi hiperlipida dan diabetes mellitus. Tepat obat sebesar 88,85% dan tidak tepat obat sebesar 11,15%. Ketidaktepatan obat terjadi pada kasus penggunaan obat yang tidak sesuai algoritma, yakni pasien hipertensi *stage* 2 mendapatkan pengobatan tunggal. Serta tepat dosis sebesar 98,14% dan tidak tepat dosis sebesar 1,86%. Kasus yang terjadi pada ketidaktepatan dosis adalah pasien hanya menerima pengobatan tunggal (bisoprolol) dengan dosis yang kurang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Katzung, B.G., Susan, B.M., dan Anthony, J.T. Basic and clinical pharmacology 10 th edition. China: The McGraw-Hill Companies Inc; 2014.
2. Florensia, A. Evaluasi penggunaan obat antihipertensi di instalasi rawat inap RSUD kota Tangerang dengan metode anatomical therapeutic chemical/defined daily dose pada tahun 2015. [skripsi]. Jakarta: Program Studi Farmasi; 2016.
3. Chobanian, A.V., George, L.B., Henry, R.B., William, C.C., Lee, A.G., et al. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Journal Of The American Heart Association*. 2004. 42:1206-52
4. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. 2007.
5. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. 2013.
6. Kemenkes RI. Modul penggunaan obat rasional. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2011.
7. Depkes RI. Pharmaceutical care untuk penyakit hipertensi. Ditjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan. 2006.
8. Budiman., Rosmariansa, S., Paramita P. Hubungan dislipidemia, hipertensi, dan diabetes mellitus dengan kejadian infark miokard akut. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*. 2015.10(1):32-7.
9. American Heart Association. Heart International Cardiovascular Disease Statistic. 2011. [online] <http://www.american.heart.org/> diakses tanggal 11 Januari 2018.
10. Creager, M.A., Luscher, T.F., Cosentino, F., Beckman, J.A. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy. *circulation*. 2003. 108:1527-9
11. Sargowo, D. Single pill combination in antihypertensive therapy. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2012.
12. Chi, C., Chenhui, T., Bin, B., Shikai, Y., Marianna, K. Angiotensin system blockade combined with calcium channel blocker is superior the other combinations in cardiovascular protection with similar blood pressure reduction: a meta-analysis in 20,451 hypertensive patients. *The Journal of Clinical Hypertension*. 2016. 18(8).
13. Syamsudin. Interaksi obat konsep dasar dan klinis. Jakarta: UI Press; 2011.
14. Sumawa, P.M.R., Adeanne C.W., dan Paulina V.Y.Y. Evaluasi kerasionalan penggunaan obat antihipertensi pada pasien hipertensi rawat inap di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado periode Januari-Juni 2014. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2015. 4(3)

15. BPOM RI. Pusat Informasi Obat Nasional. 2014. [online] <http://pionas.pom.go.id/ioni> diakses 12 Juni 2018.
16. Kowalski, R. E. Terapi hipertensi program 8 minggu, terjemahan oleh Rani S. E. Bandung: Qanita. 2010.
17. Brunton, L., Bruce, C., Bjorn, K. Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics 12th edition. New York: McGraw Hill Medical; 2011.
18. Anonim. Guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high
19. blood pressure in adults. Clinical Practice Guideline. 2017. (Tersedia di <https://goo.gl/oQeHRg>)

Penilaian Kualitas Hidup Terkait Kesehatan Pasien Kanker Payudara di RSUP Dr. M. Djamil Padang, Indonesia

(The Assessment of Health Related Quality of Life for Patients with Breast Cancer in Dr. M. Djamil Hospital Padang, Indonesia)

DIAN AYU JUWITA*, ALMAHDY, RIZKA AFDILA

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang, Indonesia

Diterima 7 Januari 2019, Disetujui 10 April 2019

Abstrak: Kualitas hidup terkait kesehatan merupakan rasa nyaman dan kepuasan pasien terhadap fungsi pengendalian penyakit termasuk psikologis, sosial, dan kesehatan fisiknya. Pengukuran kualitas hidup perlu dilakukan karena intervensi terapi seperti obat berpotensi untuk meningkatkan atau menurunkan kualitas hidup. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh kemoterapi terhadap kualitas hidup pasien kanker payudara di RSUP Dr. M. Djamil Padang. Penilaian kualitas hidup dilakukan menggunakan kuesioner EORTC QLC-30. Sampel penelitian adalah pasien kanker payudara di Poliklinik Bedah RSUP Dr. M. Djamil Padang selama bulan Maret - Mei 2018 yang memenuhi kriteria inklusi. Data ditransformasikan menjadi skor dengan rentang 0-100 menggunakan rumus transformasi linear, kemudian disajikan berupa nilai *mean*. Kualitas hidup pasien kanker payudara berdasarkan kelompok skala fungsional dari domain fungsi kognitif ($71,09 \pm 21,05$), fungsi peran ($66,65 \pm 26,52$), fungsi fisik ($61,97 \pm 22,22$), fungsi emosional ($60,91 \pm 18,24$), dan fungsi sosial ($51,47 \pm 15,24$), sedangkan pada kelompok skala gejala dari domain diare ($24,41 \pm 23,69$), konstipasi ($26,38 \pm 29,36$), dyspnea ($31,35 \pm 31,80$), insomnia ($42,24 \pm 34,26$), kesulitan keuangan ($48,03 \pm 22,24$), penurunan nafsu makan ($53,00 \pm 26,28$), nyeri ($55,41 \pm 20,11$), kelelahan ($58,59 \pm 17,58$), serta mual dan muntah ($68,00 \pm 28,82$), terakhir untuk status kesehatan umum/QoL diperoleh $65,03 \pm 14,83$.

Kata kunci: Kualitas hidup, kanker payudara, kuesioner EORTC QLC-30, domain kualitas hidup.

Abstract: Health related quality of life is a feeling of comfort and patient satisfaction with the function of controlling diseases including psychological, social, and physical health. Measurement of quality of life needs to be done because therapeutic interventions such as drugs potentially to increase or decrease the quality of life. The purpose of this study to determine the effect of chemotherapy on the quality of life of breast cancer patients in Dr. M. Djamil Hospital Padang. Assessment of the quality of life of breast cancer patients was performed using an EORTC QLC-30 questionnaire. The sample of the study was breast cancer patients in surgical polyclinic of Dr. M. Djamil Hospital Padang during the period of March to May 2018 meeting the inclusion criteria. The data is rated in the range 0-100 using a linear transformation formula, then presented as a mean value. The quality of life of breast cancer patients based on the functional scale group of cognitive function domain (71.09 ± 21.05), role function (66.65 ± 26.52), physical function (61.97 ± 22.22), emotional function 60.91 ± 18.24 , and social function (51.47 ± 15.24), whereas in symptom scale group from diarrhea domain (24.41 ± 23.69), constipation (26.38 ± 29.36), dyspnea (31.35 ± 31.80), insomnia (42.24 ± 34.26), financial difficulties (48.03 ± 22.24), decreased appetite (53.00 ± 26.28), pain (55.41 ± 20.11), fatigue (58.59 ± 17.58), and nausea and vomiting (68.00 ± 28.82), last for general health status / QoL obtained 65.03 ± 14.83 .

Keywords: Quality of life, breast cancer, EORTC QLC-30 questionnaire, domain quality of lifes.

*Penulis korespondensi: Hp :081363001618
e-mail: dianayujuwita@phar.unand.ac.id

PENDAHULUAN

KANKER payudara banyak terjadi di kalangan wanita dengan perkiraan angka kematian sekitar 40.610 kasus (6,8%) dari semua kasus kanker⁽¹⁾. Provinsi Sumatera Barat menempati posisi ketiga prevalensi kanker payudara tertinggi setelah D.I. Yogyakarta dan Kalimantan Timur, yaitu 0,9% atau diperkirakan sekitar 2.285 orang⁽¹⁾. Penatalaksanaan yang dapat dilakukan pada pasien kanker payudara adalah operasi, radiasi, kemoterapi, atau kombinasi⁽²⁾. Kemoterapi sebagai salah satu pengobatan kanker payudara sangat efektif dalam mengecilkan ukuran tumor dan mematikan sel kanker, namun pasien tetap dapat mengalami dampak utama dari kanker dan pengobatannya^(3,4). Hal ini akan mempengaruhi pola normal pasien dalam aktivitas sosial, kesehatan psikososial, spiritual, dan gejala fisik^(5,6). Efek samping mual muntah dan rasa sakit selama kemoterapi dilaporkan juga sangat mengganggu aktivitas pasien^(2,5). Oleh karena itu pengobatan kanker payudara sering dikaitkan dengan tekanan psikologis dan penurunan kualitas hidup terkait kesehatan (HRQoL)^(7,8).

Pemilihan kemoterapi harus dilakukan dengan mempertimbangkan faktor kebutuhan akan respon yang cepat dan signifikan serta pertimbangan kualitas hidup⁽⁹⁾. Berbeda dengan toksisitas yang umumnya dicatat dengan baik dalam pengujian klinis, pengukuran kualitas hidup paling jarang diukur dan analisa data pelaporan kualitas hidup sering tidak ada. Beberapa penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa kemoterapi dapat mengurangi kualitas hidup pasien kanker termasuk pasien kanker payudara⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Evaluasi kualitas hidup pada pasien kanker sering dijadikan titik akhir dalam uji klinis kanker karena dapat dijadikan acuan keberhasilan dari suatu terapi serta peningkatan kontribusi pada pengobatan yang lebih baik⁽⁵⁾. Pengukuran kualitas hidup dapat mempengaruhi pengambilan keputusan terapi, memantau efek pengobatan, membantu dokter dalam memilih regimen obat yang efektif, sampai dengan mengetahui kepatuhan pasien dalam menjalani pengobatan^(2,7). Melalui metode pengukuran kualitas hidup juga dapat diketahui domain atau dimensi yang memberikan pengaruh besar pada kualitas hidup⁽¹²⁾.

Penilaian kualitas hidup pasien kanker payudara pada penelitian ini menggunakan kuesioner EORTC QLC-30 yang telah diterjemahkan dan divalidasi oleh Perwitasari *et al*⁽⁶⁾. Kuesioner EORTC QLQ-C30 terdiri dari 30 item untuk menilai skala spesifik untuk berbagai aspek kualitas hidup yang dikelompokkan menjadi 15 domain, yaitu lima subskala fungsional

(fungsi fisik, peran, emosional, kognitif, dan sosial), tiga subskala gejala (kelelahan, nyeri, dan mual atau muntah), subskala kesehatan atau QoL secara umum, dan enam item tunggal untuk berbagai gejala dan dampak keuangan yang dirasakan^(6,13).

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Data dari pasien kanker payudara di RSUP Dr. M. Djamil Padang selama bulan Maret – Mei 2018.

METODE. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pengambilan data secara prospektif pada pasien kanker payudara di RSUP Dr. M. Djamil Padang selama bulan Maret – Mei 2018.

Pemilihan Sampel. Sampel diambil secara *purposive sampling*, yaitu dengan memilih semua pasien kanker payudara di RSUP Dr. M. Djamil Padang yang memenuhi kriteria inklusi selama waktu pengambilan sampel. Kriteria inklusi meliputi pasien kanker payudara di Poliklinik Bedah RSUP Dr. M. Djamil Padang, mendapatkan kemoterapi neoadjuvan atau adjuvan, baik tunggal maupun kombinasi, berumur >18 tahun, bersedia terlibat dalam penelitian dengan mengisi *informed consent*.

Pengumpulan Data. Kualitas hidup pasien kanker payudara dinilai dengan menggunakan kuesioner EORTC QLC C-30^(6,13). Kuesioner yang telah dicetak diberikan kepada pasien untuk diisi dengan didampingi oleh peneliti.

Penilaian jawaban kuisoner EORTC QLQ C-30. Prinsip umum penilaian jawaban kuisoner EORTC QLQ-C30 diadopsi dari EORTC QLQ-C30 *Scoring Manual version 3.0*. EORTC QLQ-C30 terdiri dari skala *multi-item* dan *single-item*. Skala *multi-item* terdiri dari 5 skala fungsi, 3 skala gejala, dan 1 skala kesehatan (QoL) secara umum yang terdiri dari beberapa *item* pertanyaan untuk setiap skala, sedangkan *single-item* terdiri dari 6 *item* pertanyaan. Setiap *item* pertanyaan dapat dijawab dengan memilih poin 1 = tidak, 2 = sedikit, 3 = sering, atau 4 = sangat sering, yang kemudian ditransformasikan kedalam rentang nilai 0-100. Skor yang lebih tinggi menunjukkan tingkatan respon yang lebih baik pada skala fungsional dan status kesehatan umum (QoL), namun lebih buruk pada skala gejala (Tabel 1)⁽¹⁴⁾.

Tabel 1. Interpretasi kualitas hidup⁽¹⁴⁾.

Skor (S)	Interpretasi
≤33,3	Buruk
33,4-66,5	Sedang
>66,6	Baik

Tabel 2. Rumus transformasi linier untuk memperoleh skor⁽¹³⁾

Skala	Transformasi linear
Fungsional	$S = \left\{ 1 - \left(\frac{RS-1}{range} \right) \right\} \times 100$
Gejala	$S = \left\{ \frac{RS-1}{range} \right\} \times 100$
Status kesehatan secara umum	$S = \left\{ \frac{RS-1}{range} \right\} \times 100$

Keterangan: S = Skor, RS = raw score, dan range = perbedaan antara nilai mungkin maksimum dari raw score dan nilai mungkin minimum. Karena skor untuk semua item antara 1-4, maka range = 3, kecuali pada item yang berkontribusi terhadap status kesehatan umum (QoL), yaitu pertanyaan dengan 7 poin, maka range = 6.

Analisa Data. Data yang telah didapatkan melalui pengisian kuisioner ditransformasikan menjadi skor dengan rentang 0-100 menggunakan rumus pada Tabel 2, kemudian hasil kualitas hidup dideskripsikan dengan menggunakan nilai *mean* dan standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan setelah diperoleh rekomendasi berupa lolos kaji etik dari tim etik penelitian RSUP Dr. M.Djamil Padang dengan nomor surat PE.32.2018. Terdapat 34 responden penelitian pasien kanker payudara yang memenuhi kriteria inklusi di Poliklinik Bedah RSUP Dr. M. Djamil Padang selama bulan Maret hingga Mei 2018.

Pada penelitian ini diperoleh gambaran skor HRQoL pasien kanker payudara berdasarkan penilaian jawaban kuisioner EORTC QLQ-C30 yang diadopsi dari EORTC QLQ-C30 *Scoring Manual version 3.0* (Tabel 3)^(6,13). Pada skala fungsi nilai skor rata-rata berdasarkan hasil penilaian adalah $62,44 \pm 16,59$ (Tabel 3). Domain yang memiliki nilai rata-rata tertinggi adalah fungsi kognitif ($71,09 \pm 21,05$) sementara yang terendah adalah fungsi sosial ($51,47 \pm 15,24$).

Beberapa penelitian juga menunjukkan skala fungsi memiliki nilai tertinggi pada domain fungsi kognitif dan rendah pada domain fungsi sosial^(11,12,15,16). Pada kuesioner, pertanyaan terkait fungsi kognitif terdiri atas pertanyaan tentang kemampuan mengingat dan kemampuan berkonsentrasi, namun responden umumnya menyatakan tidak terlalu merasakan adanya perubahan pada pola pikir mereka. Hal ini sejalan dengan penelitian Wulandari *et al.* yang menyatakan kemampuan mengingat dan berkonsentrasi responden masih cukup baik setelah menjalani kemoterapi⁽¹⁷⁾.

Meskipun demikian beberapa pasien yang ditemui mengaku mengalami gangguan kognitif. Karboplatin dalam regimen paklitaksel-karboplatin kanker diketahui dapat menyebabkan efek samping berupa *myelosuppression* yang dapat menyebabkan masalah kognitif pasien kanker, akibatnya pasien mengalami penurunan daya ingat dan sulit untuk berkonsentrasi⁽²⁾.

Pasien kanker juga mengalami gangguan dalam fungsi sosialnya. Penyebab terganggunya aktivitas pasien karena harus beristirahat total setelah menjalani kemoterapi⁽²⁾. Disamping itu, kondisi medis dan efek samping kemoterapi berupa rasa nyeri dan mual muntah juga menjadi penyebab rendahnya nilai fungsi sosial pasien kanker payudara^(12,15). Pasien tidak dapat menjalankan perannya secara maksimal dalam lingkungannya baik dalam mencari nafkah ataupun ikut serta pada kegiatan bermasyarakat⁽¹⁸⁾.

Untuk memberikan fungsi sosial yang lebih baik kepada pasien kanker payudara perlu untuk memastikan dukungan penuh dari seluruh keluarga, lingkungan, dan komunitasnya. Kehadiran dan tingkat dukungan sosial terhadap pasien dengan kanker payudara akan sangat berpengaruh terhadap psikologis dan psikososial pasien. Kurangnya dukungan sosial

Tabel 3. Nilai rata-rata kualitas hidup/HRQoL masing-masing domain (n=34).

Variabel	Rata-rata ± SD
Kuisisioner QLQ-C30	
Status kesehatan umum / QoL	
1. Status kesehatan umum / QoL	65,03 ± 14,831
Rata-rata	65,03 ± 14,831
Skala fungsional	
1. Fungsi fisik	61,97 ± 22,22
2. Fungsi peran	66,65 ± 26,52
3. Fungsi emosional	60,91 ± 18,24
4. Fungsi kognitif	71,09 ± 21,05
5. Fungsi sosial	51,47 ± 15,24
Rata-rata	62,44 ± 16,59
Skala gejala	
1. Kelelahan	58,59 ± 17,58
2. Mual dan Muntah	68,00 ± 28,82
3. Nyeri	55,41 ± 20,11
4. Dyspnea	31,35 ± 31,80
5. Insomnia	42,24 ± 34,26
6. Penurunan nafsu makan	53,00 ± 26,28
7. Konstipasi	26,38 ± 29,36
8. Diare	24,41 ± 23,69
9. Kesulitan keuangan	48,03 ± 22,24
Rata-rata	45,24 ± 15,92

telah dikaitkan dengan hasil kesehatan yang buruk, menimbulkan stress, dan terjadinya kecemasan/depresi akibat persepsi mengenai resiko kanker yang berlebihan⁽¹⁹⁾.

Nilai skor rata-rata untuk skala gejala adalah $45,24 \pm 15,92$ (Tabel 3). Pada skala gejala nilai rata-rata skor tertinggi adalah kejadian mual dan muntah ($68,00 \pm 28,82$) dan kelelahan ($58,59 \pm 17,58$), hal ini menunjukkan bahwa kejadian mual dan kelelahan merupakan domain yang lebih buruk dari semua domain pada skala gejala. Kondisi diatas sejalan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya^(11,15,16).

Mual dan muntah akibat kemoterapi secara umum dinilai sebagai efek samping paling tidak menyenangkan pada pasien yang menjalani kemoterapi yang menyebabkan penurunan kualitas hidup^(7,11,12). Obat sitotoksik yang digunakan oleh pasien dapat menjadi alasan mual dan muntah yang signifikan, contohnya siklofosamid dan epirubisin yang berpotensi lebih tinggi risiko (>90%) menyebabkan emesis⁽¹¹⁾. Mual muntah termasuk dalam efek samping dini karena sering terjadi dalam satu sampai dua puluh empat jam setelah pemberian sitostatika, meskipun juga dapat terjadi pada waktu lebih dari dua puluh empat jam^(2,7).

Resiko mual muntah dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti potensi emetogenik, regimen sitostatika serta faktor spesifik dari pasien⁽²⁰⁾. Mual dan muntah ini terjadi karena sitostatika dapat mempengaruhi fungsi neuroanatomi, neurotransmitter, dan reseptor pada pusat muntah, dimana terjadi stimulasi pada reseptor gastrointestinal dan reseptor di *Chemoreceptors Trigger Zone* (CTZ) yang mengirim pesan ke nukleus traktus solitaries pada otak. Hal ini dapat merangsang salivasi, kontraksi diafragma, otot pernapasan, dan otot perut^(16,20,21).

Sitostatika juga bersifat toksik bagi sel enterokromafin yang melapisi mukosa traktus gastrointestinal. Kerusakan sel tersebut mengaktifkan radikal bebas yang menyebabkan sel enterokromafin melepaskan serotonin dalam jumlah banyak. Serotonin kemudian berikatan dengan reseptor 5-HT₃ yang terdapat pada seraf aferen nervus vagus yang berdekatan dengan sel enterokromafin tersebut. Ikatan tersebut memberikan informasi pada otak sehingga terjadi respon muntah^(20,21). Gejala mual muntah ini harus segera ditangani karena dapat menyebabkan berkurangnya nafsu makan, melemahnya kondisi tubuh, dehidrasi, gangguan elektrolit dan status gizi berkurang⁽²⁾.

Kelelahan adalah gejala umum yang dialami

akibat pemberian kemoterapi pada pasien. Pemberian regimen kemoterapi dapat menyebabkan gejala kelelahan dengan derajat yang berbeda-beda. Gejala ini beresiko lebih tinggi terjadi pada pasien dengan keadaan depresi serta rendahnya fungsi emosional akibat keadaan fisik, nyeri, gangguan tidur dan penurunan fungsi tubuh^(2,22).

Nilai terendah diperoleh dari domain diare ($24,41 \pm 23,69$), hal yang sama diketahui dari penelitian Agustini *et al* dan Noviyani yang memperoleh nilai terendah juga pada diare^(12,13). Diare dapat dicegah dengan pemberian makanan yang bergizi dan tinggi serat. Serat diketahui dapat mencegah diare dengan cara membantu memulihkan aktivitas normal usus⁽²³⁾. Namun terdapat beberapa penelitian yang menyatakan bahwa diare merupakan salah satu dari efek kemoterapi yang paling sering terjadi, hal ini disebabkan karena terjadinya perubahan pada permeabilitas usus pada pasien yang menjalani kemoterapi^(16,24). Perbedaan ini kemungkinan dapat disebabkan populasi pasien yang berbeda (jumlah pasien, umur pasien, status gizi).

Berdasarkan status kesehatan umum (QoL) skor rata-rata HRQoL pasien kanker payudara adalah $65,03 \pm 14,83$ (Tabel 3). Status kesehatan umum terdiri dari dua pertanyaan terkait dengan penilaian responden terhadap kondisi kesehatannya secara keseluruhan dan kualitas hidupnya⁽⁶⁾. Hasil ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Chean *et al.* dan Goodwin *et al.* yaitu secara berurutan 66,7 dan 67,9, ini menunjukkan status kesehatan umum yang cukup baik atau sedang^(11,25). Pasien tidak akan mengalami penurunan yang signifikan pada status kesehatan umum jika sebelumnya telah menerima informasi mengenai apa yang akan dihadapi selama mendapatkan kemoterapi⁽¹²⁾. Sebelum menjalani kemoterapi di RSUP DR. M. Djamil Padang, pasien kanker payudara sudah mendapatkan penjelasan yang cukup dari tenaga kesehatan terkait pengobatan yang akan dijalani, efek samping yang akan muncul, dan upaya yang dapat dilakukan pasien untuk mengurangi rasa tidak nyaman akibat kemoterapi tersebut.

SIMPULAN

Kualitas hidup terkait kesehatan (HRQoL) pasien kanker payudara yang menjalani kemoterapi di RSUP Dr. M. Djamil Padang termasuk dalam kategori sedang. Domain yang berpengaruh besar terhadap tingginya kualitas hidup pasien kanker payudara adalah fungsi kognitif dan gejala diare, sedangkan domain yang menyebabkan rendahnya kualitas hidup adalah domain fungsi sosial dan gejala mual dan muntah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat dan memberikan kontribusi yang berarti dalam penelitian ini. Penelitian ini menggunakan Dana Penelitian Pengembangan Dosen Fakultas Farmasi Universitas Andalas Tahun Anggaran 2018.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. Pusat Data dan Informasi (InfoDATIN) Kementerian Kesehatan RI. Jakarta Selatan: Kemenkes RI; 2015.
2. Tunas IK, Sagung CY, Putu AI, Rini N, Nyoman DB. Penilaian kualitas hidup pasien kanker serviks dengan kemoterapi paklitaksel–karboplatin di RSUP Sanglah. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 2016.5(1):35-46.
3. Eiriksson L, Gennady M, Allan C. Neoadjuvant chemotherapy in the treatment of cervical cancer. Canada: Intercophen; 2012.
4. Wang, Huali, Zhu L, Zu H, Yu Y, Yang Y. Clinicopathological risk factors for recurrence after neoadjuvant chemotherapy and radical hysterectomy in cervical cancer. *World J Surgical Oncol*. 2013.11(301):1–5. doi: 10.1186/1477- 7819-11-301.
5. Dehkordi A, Heydarnejad MS, Fateh D. Quality of life in cancer patients undergoing chemotherapy. *Oman Medical Journal*. 2009. 24(3): 204 – 7.
6. Perwitasari DA, Jarir A, Iwan D, Mohammad H, Hans G, Hein P, Johan WR, Henk-Jan G. Translation and validation of EORTC QLQ-C30 into Indonesian version for cancer patients in Indonesia. *Japanese Journal of Clinical Oncology*. 2011.41(4):519–29. doi: 10.1093/jjco/ hyq243.
7. Suwendar, Achmad F, Tri MA, Herri SS. Evaluasi kualitas hidup dengan kuesioner EQ-5D pada pasien kanker serviks rawat inap sebelum dan setelah kemoterapi. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 2017.6(1):1-10.
8. Marcellusi A, Capone A, Favato G, Mennini FS, Baio G, Haeussler K, et al. Health utilities lost and risk factors associated with HPV-induced diseases in men and women: the HPV Italian collaborative study group. *Clin Ther*. 2015.37(1):156–67. doi: 10.1016/j. clinthera.2014.11.002
9. Cardoso F, Bedard PL, Winer EP, Pagani O, Senkus-Konefka E, Fallowfield LJ, Kyriakides LJ, Kyriakides S, Costa A, Cufer T, Albain KS. International guidelines for management of metastatic breast cancer: Combination vs Sequential Single-Agent Chemotherapy. *J Natl Cancer Inst*. 2009. 101: 1174-81.
10. Perwitasari DA. Pengukuran kualitas hidup pasien kanker sebelum dan sesudah kemoterapi dengan EORTC QLQ C30 di RSUP Dr.Sardjito Yogyakarta. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2009.20(2):68–72.
11. Chean DC, Zang WK, Lim M, Zulkefle N. Health Related Quality of Life (HRQoL) among breast cancer patients receiving chemotherapy in Hospital Melaka: Single Centre Experience. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2016.17(12): 5121–6.
12. Agustini DD, Surahman E, Abdullah R. Kualitas hidup pasien kanker payudara dengan terapi kombinasi Fluorouracil, Doxorubicin, dan Cyclofosfamide. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 2015;.4(3): 175-85.
13. Noviyani R, Ketut T, Ayu I, Nyoman GB. Uji validitas dan reliabilitas kuesioner EORTC QLQ C-30 untuk menilai kualitas hidup pasien kanker ginekologi di RSUP Sanglah Denpasar. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 2016.5(2):106-14.
14. Tan ML, Idris DB, Teo LW, Loh SY, Seow GC, Chia YY, Tin AS. Validation of EORTC QLQ-C30 and QLQ-BR23 questionnaires in the measurement of quality of life of breast cancer patients in Singapore. *Asia-Pacific Journal of Oncology Nursing*. 2014.1(1):22 – 32.
15. Graells-Sans A, Serral G, Puigpinos-Riera R. Social inequalities in quality of life in a cohort of women diagnosed with breast cancer in Barcelona (DAMA cohort). *Cancer Epidemiology*. 2018; 54: 38 – 47.
16. Sharma R, Tobin P, Clarke SJ. Management of chemotherapy-induced nausea, vomiting, oral mucositis, and diarrhoea. *Lancet Oncology*. 2005.6; 93-102.
17. Wulandari N, Bahar H, Ismail CS. Gambaran kualitas hidup pada penderita kanker payudara di Rumah Sakit Umum Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara tahun 2017. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*. 2017. 2(6).
18. Velikova G, Coens C, Efficace F, Greimel E, Groevold M, Johnson C, et al. A health related quality of life in eorte clinical trials 30 years of progress from methodological developments to making a real impact on oncology practice. *EJC Supplements IO*. 2012. (1):141–9. doi:10.1016/S1359- 6349(12)70023-X
19. Sanders JB, Loftin A, Seda JS, Ehlenbeck C. Psychosocial distress affecting patients with carcinoma in situ comapred to patients with early invasive breast cancer. *Clinical Journal of Oncology Nursing*.2014. 18(6).
20. Likun Z, Xiang J, Yi B, Xin D, Tao ZL. A systematic review and meta-analysis of intravenous palonosetron in the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting in adults. *The Oncologist*. 2011. 16: 207 – 16.
21. Hawkins R, S Grunberg. Chemoteraphy-induced nausea and vomitting: challenges and opportunities for improved patients outcomes. *Clin J Oncol Nurs*. 2009.13(1): 54–64. doi: 10.1188/09.CJON.54-64.
22. Cantarero-Villanueva I, Fernandez-Lao C, Fernandez-De-Las-Penas C, Diaz-Rodriguez L, Sanchez-Cantalejo E, Arroyo-Morales M. Assosiation among musculoskeletal impairments, depression body image and fatigue in breast cancer survivors within the first year after treatment. *European Journal of Cancer Care*. 2011.20: 632 – 9.
23. Sampath K, Debjit B, Duraivel S, Umadevi M. Traditional and medicinal uses of banana. *IC Journal*. 2012.1(3):51– 63.

24. Russo F, Linsalata M, Clemente C. The effects of fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide (fec60) on the intestinal barrier function and gut peptides in breast cancer patients: an observational study. *BMC Cancer*. 2013.
25. Goodwin PJ, Ennis M, Bordeleau LJ, Pritchard KI, Trudeau ME, Koo J, Hood N. Health-Related Quality of Life and psychosocial status in breast cancer prognosis: analysis of multiple variables. *Journal of Clinical Oncology*. 2014.22(20): 4184 – 92.

Aktivitas Senyawa *Sargassum* sp. sebagai Anti-aterosklerosis dengan Perbandingan Ligan-Reseptor HMG-CoA Reduktase-Simvastatin (1HW9) dan Uji Toksisitas secara *In-Silico*

(Activity of Compounds in *Sargassum* sp. as Anti-atherosclerosis with Ligand-Receptor Comparison HMG-CoA Reductase-Simvastatin (1HW9) and In-Silico Toxicity Test)

SARAH ZAIDAN*, SYAMSUDIN ABDILLAH, DENI RAHMAT, RATNA DJAMIL, ESTI MUMPUNI

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan

Diterima 10 Agustus 2018, Disetujui 10 April 2019

Abstrak: Rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.) merupakan salah satu biota laut yang senyawanya telah dipublikasi mempunyai khasiat sebagai antiaterosklerosis, namun data toksisitasnya perlu juga dieksplorasi keamanannya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa aktif dari *Sargassum* sp. dan toksisitasnya secara *in-silico*. Penapisan secara virtual dilakukan dengan perangkat lunak *Molegro Virtual Docker* (MVD) dari senyawa-senyawa aktif yang terkandung di *Sargassum* dimana diduga mempunyai aktivitas antiaterosklerosis dengan mekanisme efek hipolipidemik. Senyawa uji dalam *Sargassum* antara lain: *fucooidan*, *rhamnose*, *fucoose*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol*, *phlorotannin*, dengan reseptor *adenosine* HMG-CoA reduktase-simvastatin dengan kode PDB 1HW9. Toksisitasnya diprediksi menggunakan pkCSM (*online*). Nilai RS dan RMSD sebagai hasil dari simulasi *docking* yang dilakukan pada senyawa-senyawa tersebut, didapat hasil sebagai berikut: *fucooidan* (-110,420; 1,478), *rhamnose* (-72,081; 1,629), *fucoose* (-98,408; 1,546), *galactose* (-95,757; 5,187), *fucoxantin* (-106,297; 2,161), *alginate* (-84,674; 2,897), *phlorofucofuroeckol A* (-106,701; 2,809), *phloroglucinol* (-103,140; 2,142), *phlorotannin* (-48,826; 7,750). Hasil prediksi toksisitas menunjukkan *fucooidan*, *rhamnose*, *fucoose*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol* dan *phlorotannin* tidak bersifat toksik dengan LD₅₀ 0,95-2,482 g/kg. Berdasarkan nilai RS didapatkan senyawa *fucooidan*, *fucoxantin*, dan *phlorofucofuroeckol A* yang terkandung dalam rumput laut cokelat diprediksi mempunyai aktivitas sebagai antiaterosklerosis.

Kata kunci: *Docking*, antiaterosklerosis, *Sargassum*, *in-silico*, *molegro*.

Abstract: *Sargassum* sp. is one of the marine biota published as antiatherosclerosis, but compound toxicity data need to be explored for safety. Virtual screening has been done with MVD software from active compounds contained in *Sargassum* where has activity as antiatherosclerosis with the mechanism of hypolipidemic effects. Test compounds in *Sargassum* include: *fucooidan*, *rhamnose*, *fucoose*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol*, *phlorotannin*, with HMG-CoA reductase-simvastatin adenosine receptors with a 1HW9 /PDB code. Its toxicity is predicted using pkCSM (*online*). The RS and RMSD value as a result of the docking simulation carried out on said compounds, the following results are obtained: *fucooidan* (-110.420; 1.478), *rhamnose* (-72.081; 1.629), *fucoose* (-98.408; 1.546), *galactose* (-95.757; 5.187), *fucoxantin* (-106.297; 2.161), *alginate* (-84.674; 2.897), *phlorofucofuroeckol A* (-106.701; 2.809), *phloroglucinol* (-103.140; 2.142), *phlorotannin* (-48.826; 7.750). The prediction results of toxicity showed *fucooidan*, *rhamnose*, *fucoose*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol* and *phlorotannin* not toxic with LD₅₀ 0.95-2.482 g/kg. Based on RS values, *fucooidan*, *fucoxantin*, and *phlorofucofuroeckol A* compounds contained in brown seaweed were predicted to have activity as antiatherosclerosis.

Keywords: *Docking*, antiatherosclerosis, brown seaweed, *in-silico*, *molegro*.

*Penulis korespondensi: Hp : 08151663201

e-mail: lala_ffup@yahoo.com / lalaffup@gmail.com

PENDAHULUAN

ATEROSKLEROSIS merupakan suatu penyakit akibat proses inflamasi yang melibatkan interaksi mekanisme imun dan beberapa zat metabolisme yang disertai dengan penimbunan lipid pada dinding arteri⁽¹⁾. Terapi manifestasi klinis aterosklerosis sebagian besar ditujukan untuk mengurangi gejala atau mempengaruhi respon hemodinamik dan seringkali tidak mempengaruhi penyebab atau rangkaian penyakit, yaitu aterosklerotik lesi itu sendiri, seperti golongan statin yang merupakan salah satu obat antiaterosklerosis. Efek antiaterosklerosis golongan statin yang terungkap dalam banyak percobaan klinis prospektif dapat dipertimbangkan, namun, statin tidak pernah dikenali sebagai obat yang hanya diindikasikan untuk pengobatan langsung atau pencegahan aterosklerosis. Golongan statin digunakan secara dominan dalam perannya pada hipolipidemia dan efek pengobatan diperkirakan berhasil mencapai tingkat target kolesterol *low density lipoprotein* (LDL), namun tidak sampai pada regresi lesi aterosklerosis⁽²⁾.

Aterosklerosis berkembang selama bertahun-tahun, jadi terapi antiaterosklerosis harus merupakan pengobatan jangka panjang atau bahkan seumur hidup. *Tachyphylaxis*, toksisitas, dan biaya jangka panjang diantara isu lainnya dapat menimbulkan masalah bagi penggunaan obat konvensional dalam jangka panjang, untuk itu perlu dilakukan pengembangan obat-obat yang berasal dari alam baik bahan alam di daratan maupun di laut. Indonesia merupakan negara yang memiliki banyak kekayaan alam laut yang berkhasiat obat, salah satunya rumput laut cokelat yang sedang dieksplorasi akan khasiatnya sebagai bahan obat.

Rumput laut merupakan salah satu komoditi hayati yang banyak tersebar di perairan Indonesia. Rumput laut cokelat memiliki kandungan karbohidrat, protein, abu, air, vitamin, dan mineral dalam bentuk makro dan mikro elemen yaitu kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg), fosfat (P), iodin (I), dan besi (Fe). Rumput laut cokelat mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan yaitu alkaloid, glikosida, tannin, dan steroid yang banyak digunakan dalam pengobatan dan industri farmasi serta senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas penghambatan oksidasi LDL, *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE), α -amilase, α -glukosidase, dan berpotensi memberikan efek terapeutik serta perlindungan terhadap beberapa penyakit degeneratif terutama kanker⁽³⁾.

Senyawa fenolik pada rumput laut cokelat memiliki komponen struktural yang tidak terpisahkan dari dinding sel dan memiliki berbagai fungsi perlindungan

dari radiasi UV, berperan dalam reproduksi rumput laut dan mekanisme perlindungan terhadap faktor biotik, serta memiliki sifat terapeutik. Senyawa bioaktif yang memiliki peranan sebagai antioksidan mampu menghambat dihasilkannya agen oksidatif dalam produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) oleh sel darah perifer, menghambat paparan oksidatif dalam tubuh, dan berperan dalam proses penurunan tekanan darah. Beberapa peneliti melaporkan bahwa ekstrak etanol *Sargassum* sp., *Padina* sp., dan *Turbinaria* sp., memiliki senyawa flavonoid, steroid, triterpenoid, fukoidan, serta komponen fenolik. Beberapa peneliti juga mengungkapkan kandungan senyawa aktif lainnya yaitu *rhamnose*, *fucose*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol* dan *phlorotannin*⁽⁴⁻⁷⁾.

Masalah kurangnya pengembangan obat baru sudah mulai dapat diatasi yaitu dengan adanya teknik penemuan obat baru melalui studi komputasi. Studi komputasi merupakan cabang kimia dengan menggunakan hasil kimia teori, lalu diterjemahkan ke dalam program komputer untuk menghitung sifat-sifat dan perubahan dari molekul dengan cara melakukan simulasi terhadap sistem-sistem yang besar (makromolekul seperti protein serta asam nukleat) dan sistem besar yang dapat mencakup kajian konformasi molekul serta perubahannya (misalnya proses denaturasi protein), dan perubahan fase, serta memperkirakan sifat-sifat makroskopik berdasarkan perilaku di tingkat atom dan molekul. Metode kimia komputasi bisa memprediksi namun bukan berarti dapat digunakan secara langsung, dikarenakan sedikit sekali aspek kimia yang dapat dihitung secara tepat. Hampir semua aspek kimia dapat digambarkan di dalam skema komputasi kualitatif atau kuantitatif. Kajian ini dapat memprediksi aktivitas senyawa hipotetik dan sekaligus dapat memprediksi toksisitas dari senyawa hipotetik tersebut⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Uji *in silico* menghasilkan nilai energi ikatan atau *rerank score* (RS). Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil energi ikatan berarti semakin stabil ikatan tersebut. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian tingkat komputasi untuk memprediksi aktivitas antiaterosklerosis dan toksisitas menggunakan metode *in silico* terhadap senyawa aktif dari rumput laut cokelat yaitu *fucoidan*, *rhamnose*, *fucose*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol* dan *phlorotannin*⁽¹¹⁾.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan pada penelitian virtual ini berasal dengan mengunduh ligan-reseptor HMG-CoA reduktase-simvastatin di PDB dan diperoleh ligan-reseptor 1HW9, serta bahan dari ligan 3 dimensi yang diperoleh dengan membuat struktur 3 dimensi dari senyawa aktif yang terkandung dalam rumput laut cokelat, yaitu *fucoidan*, *rhamnose*, *fuco*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol* dan *phlorotannin*.

Alat. Peralatan yang digunakan adalah komputer merek Lenovo, sistem operasi Windows 10, 64 bit, prosesor Intel Core i5-7200U, CPU @250 Ghz 270 Ghz, RAM 8 GB. Program yang digunakan meliputi *Molegro Virtual Docker 6,0* (Molegro ApS), *SMILES Translator*, *pkCSM*, *Chem office 2016*, dan PDB.

METODE. Preparasi Struktur Ligan. Penelitian ini dimulai dengan mengunduh atau melakukan preparasi struktur ligan-reseptor 1HW9, ligan-reseptor ini merupakan kristal protein dengan struktur kompleks dari reseptor adenosin tepatnya HMG-CoA reduktase dengan ligan pembanding obat simvastatin. Ligan-reseptor tersebut didapat dengan mengunduh secara gratis di *website* RCSB PDB.

Preparasi Struktur 3 Dimensi Senyawa Aktif (Senyawa Uji). Preparasi struktur 3D dilakukan pada senyawa aktif rumput laut cokelat yang meliputi: *fucoidan*, *rhamnose*, *fuco*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol*, dan *phlorotannin*, yang dibuat pada program Chem3D 16.0, setelah memperoleh bentuk stereokimia senyawa dan bentuk yang paling stabil, maka struktur tersebut disimpan dalam bentuk file SYBYL.mol2.

Proses Analisis Docking. *Docking* dilakukan menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD) semua struktur senyawa dalam bentuk gambaran 3 dimensi dan *smile name*. Terdapat beberapa langkah proses *docking*, yang pertama adalah mengunduh ligan-reseptor yaitu struktur enzim yang terlibat pada reaksi yang terjadi untuk target kerja obatnya di situs RCSB PDB. Pilih bentuk struktur enzim yang berikatan dengan obat yang menjadi pembanding zat aktif senyawa yang ingin diteliti dalam hal ini diperoleh 1HW9/1 HMG-CoA reduktase-simvastatin, kemudian reseptor yang mengandung ligan senyawa pembanding hasil unduhan tadi diimport ke MVD, dilihat *cavities*-nya dan interaksi antar ikatannya.

Tahapan kedua dilakukan deteksi posisi pada reseptor, tempat obat akan terikat (berinteraksi), tempat tersebut berupa lubang-lubang (*cavities*) pada ligan-reseptor. Tahapan ketiga yaitu struktur senyawa aktif rumput laut cokelat selanjutnya diimport ke

MVD juga sebagai ligan senyawa uji yang selanjutnya dilihat interaksi antar ikatan (*ligand map*), kemudian deteksi gugus farmakofor dan tentukan 3 titik (atom senyawa) tempat obat akan berinteraksi (berikatan) dengan ligan-reseptor.

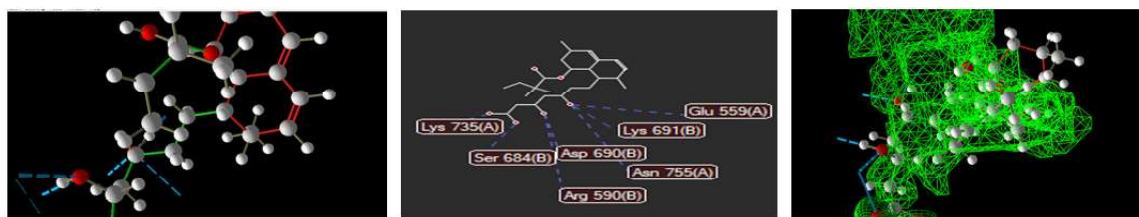
Tahapan keempat yaitu meletakkan struktur ligan senyawa uji ke dalam lubang terpilih ligan-reseptor dengan cara meletakkan struktur senyawa dalam lubang, pada program MVD dilakukan dengan cara “*align*” yaitu menempelkan tiga atom senyawa pada gugus farmakofor ke tiga atom yang sama pada ligan yang ada pada reseptor. Kelima, dilihat gambaran (*view*) posisi senyawa dalam lubang reseptor (*cavities*). Tahapan terakhir, bila telah saling berikatan dan ikatannya berada dalam *cavities* maka selanjutnya dilakukan *docking* senyawa pada reseptor, yang dilakukan secara otomatis dengan program MVD. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses ini adalah pemilihan senyawa yang di-*docking* dan *cavity* tempat obat akan berinteraksi. Parameter yang diukur dalam proses *docking* adalah nilai energi yang terlibat, berupa *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan *Hbond*, serta nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Untuk mengukur kekuatan ikatan obat-reseptor, parameter yang sering digunakan adalah nilai *Rerank Score* (RS).

Prediksi Toksisitas dari Senyawa Aktif Rumput Laut Cokelat. Prediksi toksisitas dari senyawa aktif dilakukan dengan cara memasukkan struktur *smile* atau *smile name* senyawa uji atau senyawa aktif dari rumput laut cokelat yaitu *fucoidan*, *rhamnose*, *fuco*, *galactose*, *fucoxantin*, *alginate*, *phlorofucofuroeckol A*, *phloroglucinol* dan *phlorotannin*, satu per satu ke program *pkCSM*, yang selanjutnya dapat diperoleh data lengkap tentang sifat toksisitas dari masing-masing senyawa tersebut.

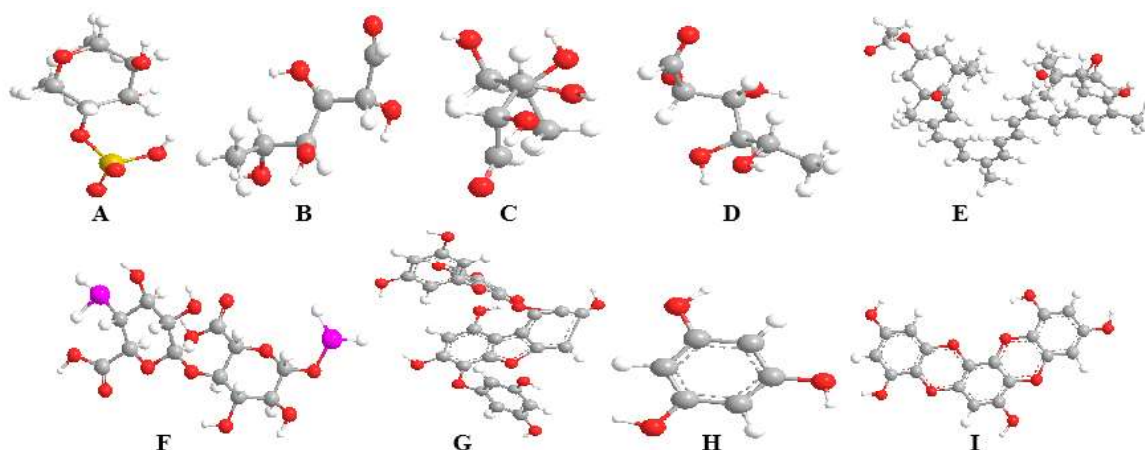
HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Struktur Ligan. Pada Gambar 1 terlihat struktur dari ligan-reseptor HMG-CoA reduktase-simvastatin, dimana terlihat gugus farmakofor tempat terikatnya obat pada ikatan asam amino yang ada pada ligan-reseptor yang merupakan protein. Akan tetapi, protein yang diunduh harus yang mempunyai ligan sehingga dapat berikat dengan obat pembandingnya dalam hal ini simvastatin yang mempunyai aktivitas sebagai antiaterosklerosis secara tidak langsung.

Pada kedua ligan-reseptor tersebut terlihat keduanya masuk pada *cavities*-nya sehingga bila dilakukan *docking* dengan senyawa uji maka senyawa hasil *docking* harus masuk *cavities*-nya untuk mendapatkan senyawa hasil *docking* yang mempunyai aktivitas yang sama dengan senyawa pembanding (*simvastatin*) dan berikatan stabil.



Gambar 1. Struktur 3 dimensi dari ligan-reseptor HMG-CoA reduktase-simvastatin (ADP-simvastatin) dengan ikatan ligan pada asam amino dan posisi dalam *cavities*.



Gambar 2. Struktur 3 dimensi dari senyawa uji (A) *fucoidan*, (B) *rhamnose*, (C) *fucose*, (D) *galactose*, (E) *fucoxantin*, (F) *alginate*, (G) *phlorofucofuroeckol A*, (H) *phloroglucinol*, (I) *phlorotannin*.

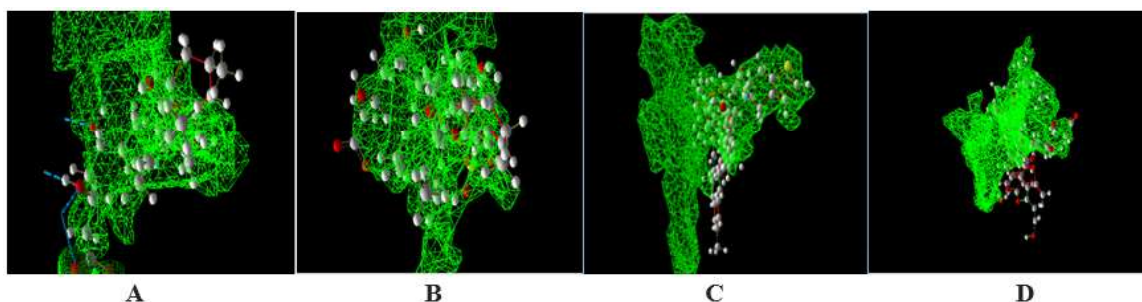
Preparasi Struktur 3 Dimensi Senyawa Aktif (Senyawa Uji). Pada Gambar 2 terlihat 9 struktur 3 dimensi senyawa aktif dari rumput laut cokelat yang selanjutnya disebut sebagai senyawa uji. Setelah memperoleh bentuk stereokimia senyawa dan bentuk yang paling stabil, maka struktur tersebut disimpan dalam bentuk file SYBYL.mol2. karena dalam bentuk file inilah yang dapat dibaca program MVD dan digunakan untuk proses *docking*.

Proses Analisis *Docking*. Hasil analisis *docking* senyawa uji dengan reseptornya (Tabel 1), diperoleh hasil *rerank score* (RS) yang menggambarkan

ikatan ligan dengan reseptor. Berdasarkan dari RS dapat diperoleh prediksi aktivitas dari senyawa uji bila telah berikatan dengan reseptornya dilihat dari semakin rendah RS maka akan semakin stabil ikatan antara ligan dan reseptor sehingga aktivitas senyawa dapat dikatakan semakin tinggi dibandingkan dengan senyawa yang mempunyai RS lebih tinggi. Sebagaimana diketahui nilai RS adalah nilai yang mencerminkan energi ikatan yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptornya, dengan demikian dapat diprediksi aktivitas dari suatu senyawa.

Tabel 1. Hasil analisis *docking* pada reseptor 1HW9 dan senyawa uji/ligan uji dengan MVD.

Senyawa uji	MolDoc score	Rerank score (RS)	RMSD
<i>Fucoidan</i>	-135,729	-110,420	1,478
<i>Rhamnose</i>	-157,928	-72,081	1,629
<i>Fucose</i>	-121,229	-98,408	1,546
<i>Galactose</i>	-148,568	-95,757	5,187
<i>Fucoxantin</i>	-136,768	-106,297	2,161
<i>Alginate</i>	-141,000	-84,673	2,897
<i>Phlorofucofuroeckol A</i>	-134,011	-106,701	2,809
<i>Phloroglucinol</i>	-142,093	-103,140	2,142
<i>Phlorotannin</i>	-160,762	-48,826	7,750
Simvastatin	-131,039	-100,675	4,933



Gambar 3. Struktur 3 dimensi dari interaksi ligan pada (A) reseptor 1HW9, dengan senyawa uji/ligan uji (B) *fucooidan*, (C) *fucoxantin*, (D) *phlorofucofuroeckol A*.

Tabel 2. Hasil prediksi toksisitas senyawa uji/ligan uji dengan pkCSM.

Senyawa uji	<i>Ames toxicity</i>	<i>Hepatotoxicity</i>	<i>Skin sensitization</i>	<i>LD₅₀ acute</i> (mg/kg)
<i>Fucooidan</i>	Tidak	Tidak	Tidak	1838
<i>Rhamnose</i>	Tidak	Tidak	Tidak	1317
<i>Fucose</i>	Tidak	Tidak	Tidak	1140
<i>Galactose</i>	Tidak	Tidak	Tidak	955
<i>Fucoxantin</i>	Tidak	Tidak	Tidak	2428
<i>Alginate</i>	Tidak	Tidak	Tidak	2212
<i>Phlorofucofuroeckol A</i>	Tidak	Tidak	Tidak	2482
<i>Phloroglucinol</i>	Tidak	Tidak	Tidak	1958
<i>Phlorotannin</i>	Ya	Tidak	Tidak	2255

Hasil analisis *docking* simvastatin enzim adenosin kode PDB 1HW9 dengan senyawa uji yang merupakan senyawa aktif dari *Sargassum* sp., sebagaimana diperlihatkan pada Tabel 1, diperoleh hasil nilai RS terendah adalah senyawa uji *fucooidan* dengan nilai -110,420 kkal/mol dan nilai RS tertinggi adalah senyawa uji *phlorotannin* sebesar -48,826 kkal/mol. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dikatakan senyawa uji *fucooidan* mempunyai aktivitas paling tinggi dibandingkan senyawa uji lainnya, karena mempunyai nilai energi paling rendah sehingga ikatan ligan-reseptor menjadi senyawa yang paling stabil, sedangkan senyawa uji *phlorotannin* sebaliknya merupakan senyawa uji yang paling rendah aktivitasnya dibandingkan senyawa uji lain karena ikatan ligan-reseptornya tidak sebaik senyawa uji lain.

Nilai RS dari hasil *docking* reseptor 1HW9 dengan simvastatin sendiri menghasilkan nilai RS yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai RS dari beberapa senyawa rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.) seperti *fucooidan*, *fucoxantin*, *phlorofucofuroeckol A*, hal ini menunjukkan bahwa senyawa dalam *Sargassum* sp. diprediksi mempunyai aktivitas antiaterosklerosis yang lebih baik dibandingkan dengan simvastatin sendiri. Struktur 3 dimensi dari interaksi ligan pada-reseptor 1HW9 dengan senyawa uji *fucooidan*, *fucoxantin*, dan *phlorofucofuroeckol A* ditunjukkan oleh Gambar 3.

Prediksi Toksisitas dari Senyawa Aktif Rumput Laut Cokelat. Analisis prediksi toksisitas dengan metode pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>) pada penelitian ini analisisnya juga dilakukan terhadap struktur 3 dimensi senyawa uji. Hasil prediksi toksisitas senyawa uji dengan pkCSM ditunjukkan oleh Tabel 2, dimana semua senyawa uji tidak bersifat hepatotoksik dengan *LD₅₀* antara 955-24822 mg/kg dan tidak bersifat karsinogenik kecuali *phlorotannin* yang positif *ames toxicity*, ini artinya hanya senyawa uji *phlorotannin* yang bersifat karsinogenik. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dikatakan semua senyawa uji yang merupakan senyawa aktif dari rumput laut cokelat diprediksi aman tidak bersifat toksik.

SIMPULAN

Berdasarkan nilai *rerank score* (RS) didapatkan senyawa *fucooidan*, *fucoxantin*, dan *phlorofucofuroeckol A* yang terkandung dalam rumput laut cokelat (*Sargassum* sp) diprediksi mempunyai aktivitas sebagai antiaterosklerosis. Senyawa dalam *Sargassum* sp. juga dapat diprediksi relatif tidak toksik dengan nilai *LD₅₀* 0,95-2,482 g/kg. Berdasarkan nilai RS senyawa dalam *Sargassum* sp. diprediksi mempunyai aktivitas antiaterosklerosis yang lebih baik dibandingkan dengan simvastatin sendiri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt., atas pemberian izin penggunaan lisensi dari *Molegro Virtual Docking* (MVD) dan bimbingannya selama ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Schimandle JH, Boden SD. The Use of Animal Models to Study Diabetes and Atherosclerosis and Potential Anti-Atherosclerotic Therapies. In: M. T. Johnstone and A. Veves © Humana Press Inc., Totowa N, editor. : Contemporary Cardiology: Diabetes and Cardiovascular Disease, 2nd ed. Totowa: © Humana Press Inc., Totowa, NJ; 2003. p. 259–78.
- Nafilah R, Prasetya RC, Susilawati IDA. Deteksi Lesi Aterosklerosis Koroner pada Model Tikus Periodontitis (Detection of Coronary Atherosclerotic Lesions in Periodontitis Rat Model). e-Jurnal Pustaka Kesehatan. 2015;Volume 3; No. 2; 217–23.
- Elly Sunirat, Rosmawaty Peranginangin dan ES. Ekstraksi dan Uji Aktivitas Fukoidan dari Rumput L. Jurnal Paska Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 2011; Volume 6; Nomer 2; 131–8.
- Fujii M, Hou D-X, Nakamizo M. Fucoidan-based health food. U.S. Jurnal Paten. Appl. Publ. 2005. p. 10 pp.
- Pakidi CS, Manajemen J, Perairan S, Pertanian F, Musamus U. Potensi Dan Pemanfaatan Bahan Aktif Alga Cokelat. Jurnal Octopus. 2016;Volume 6, No. 1: 551–62.
- Sedjati S, Santosa A, Supriyantini E. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Senyawa Fenolik Makroalga. Jurnal Kelautan Tropis ISSN 0853-7291. 2017;Volume 20; No.2;117–23.
- Kadi A. Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum. Jurnal Oseana. 2005;Volume XXX; No. 4;19–29.
- Limantara L, Heriyanto. Optimasi proses ekstraksi fukosantin rumput laut cokelat *Padina australis* Hauck menggunakan pelarut organik polar. Jurnal Ilmu Kelautan. 2011;16(2):86–94.
- Ayik Rosita Puspaningtyas. Molekular Docking Dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon Sebagai Antimikroba. Jurnal Stomatognatic (JKG Unej) Volume 9; Nomer 1; 2012:1–9.
- Saeful Amin I. Molecular Docking Simulation of Xanthorrhizol Compounds Derived from Temulawak as Antiinflammatory on Enzymes COX-1 and COX-2. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology (IJPST) . 2014; Volume1; No.1; 7–13.
- Ahmad Saifuddin, Siswandono dan BPEW. Studi In Silico Gendarusin A, B, C, D, Dan E Untuk Prediksi Absorpsi Dan Aktivitas Terhadap Hialuronidase (Ec 3.2.1.35) Ahmad.