

JURNAL

Kefarmasian Indonesia

The Indonesian Pharmaceutical Journal

Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)
dan Potensinya sebagai Inhibitor Karies Gigi
(Sogandi, Putu Nilasari)

Efek Dua Sediaan Ramuan Jamu pada Pasien Obesitas: Studi Klinis dengan
Desain Paralel, Random dan Tidak Tersamar
(Zuraida Zulkarnain, Ulfatun Nisa, Enggar Wijayanti, Ulfa Fitriani)

Aktivitas Antioksidan serta Penghambatan HMG CoA dan Lipase
dari Kombinasi Ekstrak Daun Binahong-Rimpang Temu Lawak
(Nanang Yunarto, Nurul Aini, Indah Sulistyowati,
Intan Sari Oktoberia, Arifayu Addiena Kurniatri)

Aktivitas Antiinflamasi *Crude Extract* Fukoidan dari *Sargassum crassifolium*
pada Sel RAW 264.7 yang Diinduksi LPS
(Pangartika Hikariastri, Hendig Winarno, Kusmardi,
Dian Ratih Laksmiawati, Syamsudin Abdillah)

Faktor-Faktor yang Memengaruhi *Clinical Outcome* Nyeri pada Pasien Diabetes Neuropati
di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta
(Dirga, Agung Endro Nugroho, I Dewa Putu Pramantara)

Analisis Profil dan Faktor-Faktor yang Memengaruhi Perilaku Kepatuhan Pengobatan
untuk Pasien Diabetes Mellitus Lanjut Usia
(Andi Makkulawu, Adji Prayitno Setiadi, Tri Budi Wahyuni Rahardjo, Eko Setiawan)

Analisis Biaya Obat Unit Rawat Jalan pada Rumah Sakit Badan Layanan Umum (BLU)/
Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) di Indonesia
(Suharmiati, Lestari Handayani, Betty Roosiermiatie)

Efek Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak, Buah Takokak, dan Umbi Bidara Upas
terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7
(Yuli Widiyastuti, Ika Yanti M. Sholikhah, Sari Haryanti)

Terakreditasi Ristekdikti SK Nomor 21/E/KPT/2018

Terakreditasi LIPI Nomor 783/AU1/P2MI-LIPI/11/2017

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan

Kementerian Kesehatan RI

Jl . Percetakan Negara No. 23 – JAKARTA 10560

Jurnal Kefarmasian Indonesia

The Indonesian Pharmaceutical Journal

Terakreditasi Ristekdikti SK Nomor 21/E/KPT/2018
Terakreditasi LIPI Nomor 783/AU1/P2MI-LIPI/11/2017

S u s u n a n D e w a n R e d a k s i

- Ketua Dewan Redaksi** : Dra. Ani Isnawati, M.Kes., Apt. (Ilmu Kefarmasian dan Epidemiologi Klinik)
- Anggota Dewan Redaksi** : 1. Maratu Soleha, M.Biotech., Apt. (Bioteknologi Farmasi)
2. Nanang Yunarto, M.Si., Apt. (Teknologi Farmasi, Fitokimia, Obat Tradisional)
3. Novi Sulistyaningrum, M.Si. (Kimia Bahan Alam)
4. Rosa Adelina, M.Sc., Apt. (Ilmu Kefarmasian dan Farmakologi)
5. Arifayu Addiena Kurniatri, S.Si. (Kimia Analisis dan Obat Tradisional)
6. Indah Sulistyowati, S.Si. (Kimia Analisis)
7. Intan Sari Oktoberia, S.Si. (Kimia Analisis)
8. Nurul Aini, S.Farm., Apt. (Kimia Farmasi dan Analisis)
9. Dra. Sukmayati Alegantina (Kimia Analisis dan Obat Tradisional)
- Ketua Redaksi Pelaksana** : 1. Irwan Fazar Wibowo, S.Kom., M.A.P.
- Anggota Redaksi Pelaksana** 1. Marta Hadisyah Putra, S.Kom.
2. Uud Nourma Reswandaru, S.Si
- Mitra Bestari** : 1. Prof. Dr. Abdul Rahman, M.Si., Apt. (Kimia Farmasi dan Analisis Produk Halal)
2. Prof. Dr. Berna Elya, M.Si., Apt. (Farmakognosi, Fitokimia dan Obat Bahan Alam)
3. Dr.rer.nat. Adam Hermawan, M.Sc., Apt. (Kimia Farmasi, Bioteknologi dan *Drug Discovery*)
4. Arthur Ario Lelono, M.Sc., Ph.D (Kimia Analisis dan Kimia Bahan Alam)
5. Didik Setiawan, M.Sc., Ph.D, Apt. (Asuhan Kefarmasian dan Farmakoeonomi)
6. Dr. Heni Rachmawati, Apt. (Farmasetika, Formulasi Nanoteknologi, *Drug Delivery Targeting*)
7. Dr.rer.nat Nanang Fakhruddin, M.Sc., Apt. (Farmakognosi, Fitokimia, dan Obat Bahan Alam)
8. Dr. Rizna Triana Dewi, M.Si (Kimia dan Farmakologi)
9. Dr. Yulvian Sani, M.Sc. (Toksikologi, Farmakologi, dan Obat Tradisional)
10. Dra. Lucie Widowati, M.Si., Apt. (Tanaman Obat dan Obat Tradisional)
11. Drs. Max Joseph Herman, M.Kes., Apt. (Asuhan Kefarmasian dan Manajemen Farmasi)
12. Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt (Teknologi Farmasi dan Epidemiologi Klinik)
13. Dra. Retno Gitawati, M.S., Apt. (Farmakologi dan Farmasi Klinik)
14. Dra. Rini Sasanti Handayani, M.Kes., Apt. (Asuhan Kefarmasian dan Manajemen Farmasi)
15. drh. Rita Marleta Dewi, M.Kes. (Farmakologi dan Toksikologi)

Jurnal Kefarmasian Indonesia terbit 2 kali dalam 1 tahun, pada bulan Februari dan Agustus merupakan media informasi hasil penelitian dan pengembangan bidang Kefarmasian untuk pengelola program kesehatan dan masyarakat, serta merupakan sarana komunikasi para peneliti/pengelola/peminat bidang kefarmasian

Alamat Redaksi

Pusat Penelitian dan Pengembangan
Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Kementerian Kesehatan RI
Jl. Percetakan Negara No. 23
Jakarta 10560
Telepon 021-42881762 ext 118
Website: <http://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/jki>
email : jurnalkefarmasian@gmail.com

Pengantar Redaksi

Selamat bertemu kembali dengan Jurnal Kefarmasian Indonesia. JKI Volume 9 Nomor 2 kali ini menyajikan delapan artikel pilihan. Lima artikel membahas potensi pemanfaatan bahan alam sebagai obat dan obat tradisional, sementara tiga artikel membahas tema pelayanan kefarmasian.

Artikel pertama yang ditulis oleh Sogandi, dkk membahas tentang potensi pemanfaatan buah mengkudu sebagai antimikroba yang dapat menghambat karies gigi. Artikel kedua oleh Ulfa Fitriani menyajikan hasil uji klinis terhadap dua sediaan jamu pada pasien obesitas. Dalam artikel selanjutnya, Nanang Yunarto, dkk menjabarkan pemanfaatan kombinasi ekstrak daun binahong dan rimpang temu lawak. Kombinasi kedua simplisia ini berpotensi kuat sebagai obat dislipidemia. Artikel selanjutnya ditulis oleh Pangartika Hikariastri, dkk. Artikel ini membahas aktivitas antiinflamasi dari salah satu biota laut Indonesia. Artikel terakhir tentang pemanfaatan bahan alam disajikan oleh Yuli Widiyastuti, dkk. Penulis menjabarkan tentang uji sitotoksik formula jamu daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara MCF-7.

Tema besar kedua pada edisi ini adalah pelayanan kefarmasian. Dirga, dkk membahas tentang faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati. Pasien diabetes juga menjadi sorotan Andi Makkulawu, dkk yang menghadirkan pembahasan tentang kepatuhan pengobatan diabetes pada pasien usia lanjut. Sementara itu, artikel terakhir yang ditulis oleh Suharmiati, dkk menjabarkan tentang analisis biaya obat di rumah sakit BLU dan BLUD.

Terbitnya JKI Volume 9 Nomor 2 ini tak lepas dari kerja keras banyak pihak. Untuk itu, redaksi mengucapkan banyak terima kasih atas bantuan dan kerja sama yang baik dari seluruh tim editor, mitra bebestari, dan sekretariat. Kami berharap edisi ini dapat menambah pengetahuan dan bermanfaat bagi pembaca. Salam sehat Indonesia.

Redaksi



NLM: WU 270

Sogandi, Putu Nilasari
(Program Studi Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi,
Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta, Indonesia)

**Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu
(*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai
Inhibitor Karies Gigi
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):73-81**

Abstrak

Karies gigi adalah penyakit yang banyak dialami oleh masyarakat, yang terbentuk karena penumpukan plak pada gigi dan adanya bakteri. Bakteri yang diketahui terlibat dalam pembentukan karies gigi adalah *Streptococcus mutans*. Selama ini karies gigi diobati menggunakan antibiotik. Bakteri tersebut diketahui telah resisten terhadap banyak antibiotik sehingga perlu mencari alternatif lain. Salah satu pilihan alternatif sebagai antibakteri adalah buah mengkudu. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif buah mengkudu dan mengetahui mekanisme aksinya dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dimaserasi menggunakan etanol 96%, kemudian difraksinasi menggunakan n-heksan dan etil asetat. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar, dan senyawa bioaktif diidentifikasi menggunakan GCMS. Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambatan paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan zona hambat sebesar ± 17 mm serta nilai KHM (konsentrasi hambat minimum) 10% ekstrak. Mekanisme aksi penghambatan diduga dengan membuat lubang pada membran sel bakteri. Hal ini terlihat dari tingginya konsentrasi protein serta asam nukleat yang keluar dari sel setelah perlakuan yang mengindikasikan telah terjadi kebocoran sel. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki kandungan senyawa bioaktif berupa quinolone yang dapat menjadi sumber baru untuk mengatasi karies gigi.

Kata kunci: Antibakteri; Mengkudu; Karies gigi; *Streptococcus mutans*

NLM: QV 766

Zuraida Zulkarnain, Ulfatun Nisa, Enggar Wijayanti,
Ulfa Fitriani
(Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman
Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu,
Karanganyar, Indonesia)

**Efek Dua Sediaan Ramuan Jamu pada Pasien
Obesitas: Studi Klinis dengan Desain Paralel,
Random dan Tidak Tersamar
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):82-88**

Abstrak

Obesitas merupakan komorbiditas terhadap penyakit kardiovaskular, diabetes, dan penyakit metabolik lain, dimana prevalensinya meningkat tiap tahun. Pemanfaatan jamu menjadi salah satu alternatif pilihan untuk mengatasi obesitas. Observasi klinis terhadap air rebusan ramuan jamu (jati belanda, kemuning, kelembak dan tempuyung) telah dilakukan untuk terapi obesitas yang terbukti berkhasiat menurunkan Berat Badan (BB) dan Indeks Massa Tubuh (IMT). Inovasi ke bentuk sediaan seduhan dinilai lebih praktis dibanding rebusan. Penelitian *open label randomized control trial* dengan paralel desain dilakukan untuk menilai kesetaraan khasiat penggunaan jamu berbentuk rebusan dan seduhan. Jumlah subjek masing-masing kelompok 30 subjek, merupakan pasien Rumah Riset Jamu (RRJ) Hortus Medicus selama Juni-Oktober 2016 yang memenuhi kriteria inklusi. BB dan IMT diukur pada hari ke-0, ke-28 dan ke-56, sedangkan tinggi badan diukur satu kali saat hari ke-0. Baik kelompok rebusan maupun seduhan meminum jamu 2 kali sehari selama 56 hari. Pada akhir, diketahui rerata penurunan BB kelompok rebusan 67,35 kg menjadi 66,37 kg, sedangkan kelompok seduhan 67,41 kg turun menjadi 66,45 kg. IMT kelompok rebusan 26,85 kg/m² turun menjadi 26,46 kg/m², pada kelompok seduhan 26,67 kg/m² menjadi 26,29 kg/m². Hasil uji statistik untuk membandingkan BB dan IMT kedua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan, tidak terdapat perbedaan signifikan pada dua kelompok ($p > 0,05$). Ramuan jamu untuk obesitas bentuk seduhan mampu menurunkan BB dan IMT sebanding dengan bentuk rebusan.

Kata kunci: Ramuan jamu; Obesitas; Indeks Massa Tubuh

NLM: QV 766

Nanang Yunarto, Nurul Aini, Indah Sulistyowati, Intan Sari Oktoberia, Arifayu Addiena Kurniatri
(Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan
Teknologi Dasar Kesehatan, Jakarta, Indonesia)

**Aktivitas Antioksidan serta Penghambatan HMG
CoA dan Lipase dari Kombinasi Ekstrak Daun
Binahong-Rimpang Temu Lawak
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):89-96**

Abstrak

Prevalensi dislipidemia di Indonesia terus meningkat. Radikal bebas dapat menyebabkan peningkatan terjadinya penyakit, salah satunya penyakit dislipidemia. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan berpotensi kuat sebagai obat dislipidemia. Mekanisme aksi terapi dislipidemia, yaitu menghambat sintesis kolesterol melalui enzim HMG CoA reduktase dan absorpsi kolesterol yang diperantarai enzim lipase. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan serta penghambatan enzim HMG CoA reduktase dan lipase dari kombinasi ekstrak etanol daun binahong *Anredera cordifolia* (EB) dengan ekstrak etanol rimpang temulawak *Curcuma xanthorrhiza* (ET) dan bentuk tunggalnya. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, yaitu seri kadar sampel dan pembanding asam askorbat diberikan DPPH dan metanol. Aktivitas penghambatan enzim HMG CoA dan lipase dilakukan dengan membuat beberapa seri konsentrasi sampel maupun pembanding simvastatin. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan tertinggi adalah pada sampel ET sebesar 16,21±1,74 µg/mL, namun masih kurang potensial dibandingkan asam askorbat 7,63±0,85 µg/mL. Potensi penghambatan enzim HMG CoA dan lipase paling tinggi pada ET dengan nilai IC₅₀ 8,35± 0,02 dan 22,35±1,26 µg/mL. Kombinasi ET-EB 1:1 lebih baik dari EB namun lebih rendah dari ET pada aktivitas antioksidan maupun penghambatan enzim HMG CoA reduktase dan lipase. Dari hasil tersebut menunjukkan suatu korelasi bahwa semakin tinggi aktivitas antioksidan, maka potensi penghambatan enzim HMG CoA reduktase dan lipase semakin tinggi.

Kata Kunci: Antioksidan; HMG CoA reduktase; Lipase; *Anredera cordifolia*; *Curcuma xanthorrhiza*

NLM: QV 247

Pangartika Hikariastri, Hendig Winarno, Kusmardi, Dian Ratih Laksmiawati, Syamsudin Abdillah (Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta, Indonesia, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia)

Aktivitas Antiinflamasi Crude Extract Fukoidan dari *Sargassum crassifolium* pada Sel RAW 264.7 yang Diinduksi LPS
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):97-105

Abstrak

Inflamasi merupakan respon tubuh yang mendasari berbagai penyakit kronis. Aktivasi makrofag oleh stimulus inflamasi akan memicu pelepasan berbagai mediator inflamasi, sehingga mediator inflamasi menjadi target pengembangan obat antiinflamasi yang menjanjikan. Penelitian terdahulu menunjukkan aktivitas antiinflamasi fukoidan melalui penghambatan berbagai mediator proinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antiinflamasi *crude extract* fukoidan dari *Sargassum crassifolium* yang dikumpulkan dari perairan Garut dengan melihat

pengaruhnya terhadap sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Fukoidan merupakan senyawa polisakarida dengan karakteristik beragam yang tergantung pada spesies asal dan metode ekstraksi yang digunakan. Karakteristik tersebut memengaruhi aktivitas farmakologi fukoidan. *Sargassum crassifolium* yang dikumpulkan dari Garut- Jawa Barat diekstraksi dengan larutan HCl 0,1M dan diendapkan dengan etanol hingga diperoleh *crude extract* fukoidan. *Crude extract* diujikan pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS untuk mengevaluasi efek terhadap TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 dengan menggunakan metode ELISA. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak uji menurunkan kadar TNF- α pada pemberian dosis 25 dan 50 µg/ml, serta menurunkan kadar IL-1 β dan IL-6 pada dosis 25 µg/ml. Ekstrak uji dosis 50 µg/ml tidak menurunkan kadar IL-1 β dan IL-6. Penelitian ini membuktikan bahwa *crude extract* fukoidan dari *S. crassifolium* pada dosis 25 µg/ml memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap sel RAW 264.7.

Kata kunci: *Sargassum crassifolium*; *Crude extract* fukoidan; Antiinflamasi; Sel RAW 264.7

NLM: WK 835

Dirga, Agung Endro Nugroho, I Dewa Putu Pramantara (Program Studi Farmasi, Institut Teknologi Sumatera, Lampung, Indonesia, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia)

Faktor-Faktor yang Memengaruhi Clinical Outcome Nyeri pada Pasien Diabetes Neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):106-113

Abstrak

Pengobatan terhadap nyeri diabetes neuropati belum memiliki panduan yang jelas, hal ini dikarenakan adanya tanggapan yang berbeda-beda terhadap respon nyeri tiap individu. Di Indonesia sendiri, data mengenai faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri terbatas pada pengukuran toleransi, persepsi dan sensitivitas terhadap suatu nyeri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran *clinical outcome* nyeri dan faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta. Desain penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pendekatan *cross sectional* dan pengambilan subjek uji dilakukan dengan metode *consecutive sampling* pada 81 pasien nyeri diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta periode Januari-April 2016. Pasien yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pengukuran tingkat nyeri dengan menggunakan *Visual Analog Scale* (VAS). Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan analisis *Chi Square* dan analisis regresi logistik. Hasil penelitian menunjukkan pasien dengan tercapainya *clinical outcome* nyeri sebanyak 60 orang (74,07%) dan yang tidak tercapai sebanyak 21 orang (25,93%). Faktor-

faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati adalah BMI non-obesitas ($p=0,043$), lama diabetes < 5 tahun ($p=0,022$), penggunaan antikonvulsan ($p=0,039$), dan vitamin neurotropik ($p=0,002$). Hasil uji regresi logistik menunjukkan bahwa vitamin neurotropik merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap *clinical outcome* nyeri neuropati pada pasien diabetes neuropati dengan nilai $p = 0,013$, OR = 11,109, CI = (1,668-73,970).

Kata Kunci: Diabetes neuropati; Nyeri neuropati; Clinical outcome

NLM: WK 815

Andi Makkulawu, Adji Prayitno Setiadi, Tri Budi Wahyuni Rahardjo, Eko Setiawan (Program Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia, Instalasi Farmasi Rumah Sakit Dr. M.M. Dunda, Limboto, Gorontalo, Indonesia, Departemen Farmasi Klinis dan Komunitas, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia, Pusat Informasi Obat dan Layanan Kefarmasian (PIOLK), Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia)

Analisis Profil dan Faktor-Faktor yang Memengaruhi Perilaku Kepatuhan Pengobatan untuk Pasien Diabetes Mellitus Lanjut Usia
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):114-125

Abstrak

Kepatuhan penggunaan obat merupakan salah satu faktor penting dalam pengendalian kadar gula darah pasien diabetes mellitus (DM) yang pada akhirnya juga memengaruhi risiko terjadinya komplikasi. Profil dan faktor yang memengaruhi perilaku kepatuhan dalam menggunakan obat pasien DM lanjut usia (lansia) di Surabaya Timur belum diketahui secara pasti. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi profil dan faktor-faktor yang memengaruhi perilaku kepatuhan penggunaan obat pada pasien DM lansia. Penelitian ini dilakukan secara potong lintang pada 32 Karang Werda atau pos lansia di Surabaya Timur. Identifikasi tingkat kepatuhan responden dilakukan dengan kuesioner *Adherence to Refill and Medication Scale (ARMS)* sedangkan proses identifikasi faktor dilakukan dengan menggunakan sebuah kuesioner yang telah terpublikasi. Kedua kuesioner tersebut telah divalidasi pada lansia di kota Surabaya. Hasil analisis profil kepatuhan dinyatakan dalam bentuk persentase, sedangkan analisis faktor yang memengaruhi kepatuhan dilakukan dengan mencari mean tertinggi dari antara 14 sub-domain faktor yang terdapat di kuesioner. Total terdapat 281 lansia DM yang terlibat dalam penelitian ini. Hasil analisis menunjukkan sebanyak 67,26% responden penelitian diklasifikasikan sebagai responden yang tidak patuh. Faktor dominan yang memengaruhi perilaku patuh dalam penggunaan obat pasien DM lansia adalah dukungan sosial, faktor produk obat, tenaga kesehatan, dan faktor emosional. Intervensi yang tepat untuk mengoptimalkan penggunaan obat pasien lansia DM

perlu dirancang dan diimplementasikan dengan memperhatikan faktor-faktor tersebut.

Kata kunci: Diabetes mellitus; Faktor kepatuhan; Geriatri; Usia lanjut

NLM: QV 736

Suharmiati, Lestari Handayani, Betty Roosihermiatie (Pusat Penelitian dan Pengembangan Humaniora dan Manajemen Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI)

Analisis Biaya Obat Unit Rawat Jalan pada Rumah Sakit Badan Layanan Umum (BLU)/Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) di Indonesia
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):126-139

Abstrak

Belanja obat merupakan bagian terbesar dari anggaran pelayanan kesehatan di Indonesia. Pembiayaan pelayanan kesehatan dilakukan oleh Badan Penyelenggara Jaminan Kesehatan dibayarkan kepada fasilitas kesehatan rujukan yaitu rumah sakit. Besar biaya obat di Rumah Sakit Badan Layanan Umum (BLU)/Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) di Indonesia belum diketahui dengan pasti. Artikel ini menganalisis lanjut secara deskriptif biaya obat di 84 RS BLU/BLUD dengan sumber data dari riset pembiayaan kesehatan di RS tahun 2016. Hasil penelitian menunjukkan bahwa permasalahan ketersediaan obat di kelas B sebesar 94,6%, kelas C sebesar 78,9% dan A sebesar 77,8%. Proporsi biaya obat generik terhadap total biaya obat tertinggi di kelas C selanjutnya B dan A, berturut turut 40,57%, 37,83% dan 23,74%. Besar biaya obat non generik dibandingkan biaya obat generik pada RS Kelas A, B, dan C berturut turut adalah 2,22 kali, 1,15 kali dan 0,86 kali. Besar biaya obat generik terbanyak terdapat di Rawat jalan spesialis pada semua kelas rumah Sakit. Besar biaya obat generik pada rawat jalan semakin meningkat seiring dengan peningkatan kelas rumah sakit. Kesimpulan, biaya obat di rumah sakit A dan B didominasi obat non generik sedang di C obat generik. Kebijakan penggunaan obat generik perlu terus disosialisasi dan diperhatikan oleh pihak manajemen agar dapat melakukan efisiensi biaya.

Kata kunci : Biaya obat; Rawat jalan; Rumah Sakit; BLU/BLUD

NLM: QV 766

Yuli Widiyastuti*, Ika Yanti M. Sholikhah, Sari Haryanti (Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia)

Efek Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak, Buah Takokak, dan Umbi Bidara Upas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2019;9(2):114-125

Abstrak

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian utama di dunia. Pengobatan kanker yang sangat rumit dan berbiaya tinggi mendorong masyarakat untuk mencari pengobatan alternatif dengan menggunakan tumbuhan obat. Beberapa tumbuhan obat yang secara empiris diklaim memiliki khasiat sebagai antikanker adalah sirsak (*Annona muricata*), takokak (*Solanum torvum*), dan bidara upas (*Merremia mammosa*). Ramuan tumbuhan obat tersebut belum pernah diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker MCF-7. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas sitotoksik formula jamu antikanker yang terdiri dari 3 jenis tumbuhan tersebut. Pengaruh ekstrak tunggal dan formula campuran ketiga jenis ekstrak tanaman obat tersebut diuji aktivitasnya terhadap viabilitas sel MCF-7 dengan metode MTT assay. Selanjutnya, formula jamu dengan kombinasi ekstrak tanaman obat yang paling aktif diuji aktivitasnya terhadap ekspresi protein Bcl-2 dengan metode imunositokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tunggal maupun formula ekstrak campuran daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas memberikan efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Formula A berupa campuran daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan 1:1:1 memberikan hasil penghambatan viabilitas sel MCF-7 tertinggi dengan nilai IC 50 sebesar 48 µg/ml. Formula tersebut juga meningkatkan proses apoptosis pada sel MCF-7 yang ditunjukkan melalui penurunan ekspresi protein antiapoptosis Bcl-2.

Kata kunci: Umbi bidara upas; Daun sirsak; Buah takokak; Apoptosis; MCF-7



NLM : WU 270

Sogandi, Putu Nilasari
(Pharmaceutical Program, Faculty of Pharmacy, 17
August 1945 University, Jakarta, Indonesia)

**Identification of Bioactive Compound from Noni
Fruit (*Morinda citrifolia* L.) Extract and Its
Potential as Inhibitor Dental Caries**

The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019;
9(2):73-81

Abstract

Dental caries is a disease that many people experience, which is formed by the buildup of plaque on the teeth and the presence of bacteria. The bacteria known to be involved in the formation of dental caries is *Streptococcus mutans*. Dental caries used to be treated using antibiotics. However, it is known that many antibiotics are no longer effective against this bacteria hence it is necessary to look for another alternative. One alternative choice as an antibacterial is Noni fruit. This study aims to identify the bioactive compounds of noni fruit (*Morinda citrifolia* L) and to know the mechanism of action in inhibiting the growth of *Streptococcus mutans*. Noni fruit was macerated using 96% ethanol, then fractionated using n-hexane and ethyl acetate. Antibacterial activity test was done using agar diffusion method, and identification of bioactive compounds was conducted using GCMS. The results showed that ethyl acetate fraction has the highest inhibitory activity on the growth of *Streptococcus mutans* with inhibition zone of ± 17 mm and MIC (minimum inhibitor concentration) value of 10%. The inhibition mechanism is assumed to be done by making holes in cell membranes, which can be seen from the high concentration of proteins and nucleic acids coming out of cells after treatment that in turn means that cell leakage has occurred. The results of this study indicate that noni fruit (*Morinda citrifolia* L) contain bioactive quinolone compounds that can be a new source for treating dental caries.

Keywords: Antibacterial; Noni fruit; Dental caries;
Streptococcus mutans

NLM : QV 766

Zuraida Zulkarnain, Ulfatun Nisa, Enggar Wijayanti,
Ulfa Fitriani

(Center for Research and Development of Medicinal
Plants and Traditional Medicine, Tawangmangu,
Karanganyar, Indonesia)

**The Effect of Two Preparation “Jamu” Formulas in
Obesity Patients: A Randomized, Parallel and Open
Label Design Clinical Study**

The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019;
9(2):82-88

Abstract

Obesity is a co-morbidity of cardiovascular disease, diabetes, and other metabolic diseases, which the prevalence increases every year. The use of herbal medicine is an alternative choice to overcome obesity. Clinical observation of decoction of herbal medicine (Dutch teak, kemuning, rhei radix and tempuyung) has been conducted for obesity therapy which has been proven to be effective in reducing body weight and body mass index (BMI). Innovation in steeping form is considered more practical than stew. Randomized open label parallel design research was carried out to assess the equal efficacy of the herbs in stew and steeping form. The number of subjects in each group were 30 subjects, they were patients of Rumah Riset Jamu (RRJ) Hortus Medicus during June-October 2016 who met the inclusion criteria. BW and BMI are measured on Day-0, 28 and 56, while body height is measured once at Day-0. Both stew and steeping groups drank herbs twice a day for 56 days. At the end of the study, it was found that the mean of declining BW of the decoction group was 67.35 kg to 66.37 kg, while the steeping group 67.41 kg to 66.45 kg. BMI of stew group was decreased 26.85 kg / m² to 26.46 kg / m², while in steeping group 26.67 kg / m² to 26.29 kg / m². Statistics test result to compare BW and BMI of both two groups before and after treatment showed no significant differences in the two groups ($p > 0.05$). The ability of herbal medicines in steeping or stew forms can reduce the BW and BMI equally

Keywords: Jamu formula; Obesity; Body Mass Index

NLM : QV 766

Nanang Yunarto, Nurul Aini, Indah Sulistyowati, Intan
Sari Oktoberia, Arifayu Addiena Kurniatri
(Center for Research on Biomedic and Basic Health
Technology, National Institute of Health Research and
Development, Republic Indonesia Ministry of Health,
Jakarta, Indonesia)

Antioxidant Activity along with Inhibition of HMG CoA Reductase and Lipase from *Anredera cordifolia* Leaf - *Curcuma xanthorrhiza* Rhizome Combination
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019; 9(2):89-96

Abstract

The prevalence of dyslipidemia in Indonesia continues to increase. Free radicals are increasing the occurrence of diseases, one of them is dyslipidemia. Previous studies showed that antioxidant compounds have strong potential as dyslipidemia drug. The mechanism action of dyslipidemia treatment is inhibiting cholesterol synthesis through the HMG CoA reductase and cholesterol absorption mediated with lipase. This study aimed to analyze the antioxidant activity along with the inhibition of HMG CoA reductase and lipase in a combination of ethanolic extract of *Anredera cordifolia* leaf (EB) with ethanolic extract of *Curcuma xanthorrhiza* rhizome (ET) and its single form. The antioxidant activity test was conducted using DPPH method by making serial dilution of samples and ascorbic acid with adding DPPH and methanol as standard. The inhibitory activity of HMG CoA and lipase was conducted by making a series concentration of sample as well as simvastatin as the comparison. The results showed that the highest antioxidant activity is in ET samples IC_{50} $16.21 \pm 1.74 \mu\text{g/mL}$, but was less potential compared to ascorbic acid IC_{50} $7.63 \pm 0.85 \mu\text{g/mL}$. The most potential inhibition of HMG CoA and lipase is in ET samples IC_{50} 8.35 ± 0.02 and $22.35 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$. The combination of ET-EB (1: 1) is better than EB but lower than ET in antioxidant activity as well as the inhibition of HMG CoA reductase and lipase. The result showed a correlation that the higher antioxidant activity, the higher inhibitory of HMG CoA reductase and lipase respectively.

Keywords: Antioxidant; HMG CoA Reductase; Lipase; *Anredera cordifolia*; *Curcuma xanthorrhiza*

NLM : QV 247

Pangartika Hikariastri, Hendig Winarno, Kusmardi, Dian Ratih Laksmiawati, Syamsudin Abdillah

(Faculty of Pharmacy, Pancasila University, Jakarta, Indonesia. National Nuclear Energy Agency of Indonesia, Jakarta, Indonesia. Faculty of medicine, University of Indonesia, Jakarta, Indonesia)

Anti-inflammatory Activity of Fucoïdan Crude Extract from *Sargassum crassifolium* Against LPS-induced RAW 264.7 Cells
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019; 9(2):97-105

Abstract

Inflammation is known as the basic mechanism underlying various chronic diseases. Macrophage

activation by inflammatory stimulus induces the release of inflammatory mediators, thus the mediators becoming a promising target of anti-inflammatory drug development. Previous studies indicated that fucoïdan has anti-inflammatory activity by inhibiting the release of proinflammatory mediators. The aim of this study is determining anti-inflammatory activity of fucoïdan crude extract from *S. crassifolium* Garut waters by observing at its effect on proinflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Fucoïdan is a polysaccharide substance which has various characteristics, depending on the source and the extraction method which is influencing its bioactivity. *Sargassum crassifolium* collected from Garut-West Java is extracted using diluted HCl 0,1 M and precipitated with ethanol to obtain fucoïdan crude extract. The crude extract is tested on LPS-induced RAW 264.7 cells to evaluate its effect on TNF- α , IL-1 β , and IL-6 level using ELISA method. The result showed that fucoïdan crude extract decreased the level of TNF- α by the dose of 25 and 50 $\mu\text{g/ml}$, and decreased the level of IL-1 β and IL-6 by the dose of 25 $\mu\text{g/ml}$. The dose of 50 $\mu\text{g/ml}$ failed to inhibit IL-1 β and IL-6 production. This study showed that fucoïdan crude extract derived from *S. crassifolium* has anti-inflammatory activity to raw 264.7 cell by the dose of 25 $\mu\text{g/ml}$.

Keyword: *Sargassum crassifolium*; Fucoïdan crude extract; Anti-inflammation; RAW 264.7 cells

NLM : WK 835

Dirga, Agung Endro Nugroho, I Dewa Putu Pramantara

(Pharmacy Study Program, Institute Technology of Sumatera, Lampung, Indonesia. Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia. Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia)

The Factors Influencing Clinical Outcome of Pain in Patient with Diabetic Neuropathy Patient in Internal Medicine Clinics of Yogyakarta City General Hospital
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019; 9(2):106-113

Abstract

The treatment of diabetic neuropathy pain has not possessed an explicit guideline therapy yet, due to the difference perception towards the respond of pain from certain individual. In Indonesia, the data regarding factors that could affect clinical outcome of pain are still limited to the measurement of tolerance, perception, and sensitivity of certain pain. This study aims to describe the clinical outcome of pain along with the affected factors for diabetic neuropathy patients in Internal Medicine Clinics of Yogyakarta City General Hospital. The design of this study is an analytical descriptive with cross sectional approach to 81 patients of diabetic neuropathy pain. The pain level

measurement of patient is conducted with Visual Analog Scale (VAS) Instrument. The obtained data are analyzed statistically by applying Chi Square and logistical regression analysis. The results of this study showed that 60 patients (74,07%) had reached clinical outcome of pain, and 21 patients (25,93%) had not reached clinical outcome of pain. Factors that affecting clinical outcome of pain to diabetic neuropathy patients were BMI non-obesity ($p=0.043$), period of diabetic less than 5 year ($p=0.022$), anticonvulsant consuming ($p=0.039$), and neurotropic vitamin ($p=0.002$). According to the result of multivariate analysis by applying logistical regression test, neurotropic vitamin was claimed as the most influential factor towards clinical outcome of neuropathy pain to diabetic neuropathy patients with $p = 0.013$, $OR = 11.109$, and $CI = (1,668-73,970)$.

Keywords: *Neuropathy diabetic; Neuropathic pain; Clinical outcome*

NLM : WK 815

Andi Makkulawu, Adji Prayitno Setiadi, Tri Budi Wahyuni Rahardjo, Eko Setiawan
(Pharmaceutical Master Program, Pharmacy Faculty, University of Surabaya, Surabaya, Indonesia. Pharmaceutical Instalation of Dr. M.M. Dunda Hospital, Limboto, Gorontalo, Indonesia. Department of Clinical Pharmacy and Community, Faculty of Pharmacy, University of Surabaya, Surabaya, Indonesia. Centre of Medicine Information and Pharmaceutical Services, Faculty of Pharmacy, Surabaya University, Surabaya, Indonesia)

Profile Analysis and Factors Affecting Adherence Behaviour of Medication in Elderly Diabetic Patients

The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019; 9(2):114-125

Abstract

Compliance with medication is one of the important factors in controlling blood glucose levels in patients with diabetes mellitus (DM), which in turn also determines the risk of diabetic complications. The profile and factors that influence adherence behavior in the use of medication in elderly diabetic patients in Indonesia, especially in Surabaya, are not yet known. The purpose of this study was to identify profiles and factors that influence the behavior of drug use adherence in elderly DM patients. A cross-sectional study was conducted in 32 Karang Werda or support groups for elderly in Surabaya. Identification of the respondent's level of compliance was carried out using the Adherence to Refill and Medication Scale (ARMS) questionnaire while the contributing factors towards adherence behavior were identified using a published questionnaire. Both questionnaires have been validated in elderly people living in Surabaya. Result of adherence profile analysis was expressed in terms of percentage while determinant factors analysis was identified by using the highest mean among 14 sub-

domains included in the questionnaire. In total, 281 elderly diabetic patients were recruited in this study. It was identified that 67.26% of the respondents were classified as non-adherence patients. The dominant factors that contribute to the behavior of medication adherence in elderly diabetic patients were social support, product-related factors, health workers, and emotional factors. Appropriate interventions to optimize the use of medications in elderly diabetic patients need to be identified and implemented according to the identified contributing factors.

Keywords: *Diabetes mellitus; Adherence factors; Elderly; Geriatrics*

NLM : QV 736

Suharmiati, Lestari Handayani, Betty Roosihermiatie
(Center for Research and Development in Humanities and Health Management, National Institute of Health Research and Development, Republic Indonesia Ministry of Health, Jakarta, Indonesia)

Cost Analysis of Drugs in Outpatient Department at Public Service Agency Distric/Province Hospitals in Indonesia

The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019; 9(2):126-139

Abstract

Drugs expenditure is the highest proportion in health services budget financing for health services in National Universal Health Coverage era is carried out by BPJS paid to referral health facilities namely hospitals. The medicine cost at public service agency/District or Province public service agency is unknown certainly. This descriptive study was advanced analyzes of the secondary data of 84 hospitals from health financing research in the year of 2016. The result showed that there were problems of drug availability in class B 94,6%, C 78,9% and A 77,8%. The highest proportion of generic drugs cost to total drug cost is class C hospital, followed by B class and A class hospitals i.e. 40,57%, 37,83% and 23,74% respectively. The cost of non generic drug compared to generic drugs at A, B and C class is 2,22 times, 1,15 times and 0,86 times respectively. The highest cost of generic drug is in outpatient specialist services in all class of hospitals. The cost of the drugs was increasing higher as well as the hospital class. Conclusion: The non generic drugs cost dominated in A and B class hospital while C class was generic drug cost. Generic drug use policy should be socialized by government and to be considered by management in order to be able to carried out cost efficiency.

Keywords : *Drug expenditure; outpatient; hospitals; the public service agency/District or Province public service agency*

NLM : QV 766

Yuli Widiyastuti, Ika Yanti M. Sholikhah, Sari Haryanti

(Center for Research and Development of Medicinal Plants and Traditional Medicine, Tawangmangu, Karanganyar, Indonesia)

Cytotoxic Effect of Jamu Formula of Sirsak Leaves, Takokak Fruits, and Bidara Upas Bulb against Breast Cancer Cell Line MCF-7

The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2019; 9(2):140-149

Abstract

*Cancer is one of the leading cause of death in the world. Complicated and high cost treatments of cancer encourages people to look for alternative treatments among others using medicinal plants. Some medicinal plants that are empirically claimed to have anticancer effect are soursop (*Annona muricata*), takokak (*Solanum torvum*), and bidara upas (*Merremia mammosa*). However, these medicinal herbs have not been tested for cytotoxic activity against MCF-7 cancer cells. The purpose of this study was to determine the cytotoxic activity of the anticancer herbal formula consisting those three plants. The effect of each single extract and the combination formula were tested for their activity on cell viability of MCF-7 with MTT assay method. The herbal formula with the most active combination of medicinal plant extracts was further tested for its activity on the expression of Bcl-2 protein by immunocytochemistry methods. The results showed that each single extract and the combination formula gave cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cells. Formula A, consisted of a mixture of soursop leaves, takokak fruit, and bidas upas bulb with a ratio of 1:1:1, results in highest inhibition of the viability of MCF-7 cells with IC50 values of 48 µg/ml. The formula also enhances the apoptosis process in MCF-7 cells which is shown by decreasing the expression of antiapoptotic Bcl-2 proteins.*

Keywords: *Sirsak leaves; Takokak fruit; Bidara upas bulb; Apoptosis; MCF-7*

Jurnal Kefarmasian Indonesia

The Indonesian Pharmaceutical Journal

Vol.9 No.2-Agustus 2019

DAFTAR ISI

Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia L.</i>) dan Potensinya sebagai Inhibitor Karies Gigi Sogandi, Putu Nilasari.....	73 – 81
Efek Dua Sediaan Ramuan Jamu pada Pasien Obesitas: Studi Klinis dengan Desain Paralel, Random dan Tidak Tersamar Zuraida Zulkarnain, Ulfatun Nisa, Enggar Wijayanti, Ulfa Fitriani.....	82 – 88
Aktivitas Antioksidan serta Penghambatan HMG CoA dan Lipase dari Kombinasi Ekstrak Daun Binahong-Rimpang Temu Lawak Nanang Yunarto, Nurul Aini, Indah Sulistyowati, Intan Sari Oktoberia, Arifayu Addiena Kurniatri.....	89 – 96
Aktivitas Antiinflamasi <i>Crude Extract</i> Fukoidan dari <i>Sargassum crassifolium</i> pada Sel RAW 264.7 yang Diinduksi LPS Pangartika Hikariastri, Hendig Winarno, Kusmardi, Dian Ratih Laksmiawati, Syamsudin Abdillah.....	97 – 105
Faktor-Faktor yang Memengaruhi <i>Clinical Outcome</i> Nyeri pada Pasien Diabetes Neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta Dirga, Agung Endro Nugroho, I Dewa Putu Pramantara.....	106 – 113
Analisis Profil dan Faktor-Faktor yang Memengaruhi Perilaku Kepatuhan Pengobatan untuk Pasien Diabetes Mellitus Lanjut Usia Andi Makkulawu, Adji Prayitno Setiadi, Tri Budi Wahyuni Rahardjo, Eko Setiawan.....	114 – 125
Analisis Biaya Obat Unit Rawat Jalan pada Rumah Sakit Badan Layanan Umum (BLU)/ Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) di Indonesia Suharmiati, Lestari Handayani, Betty Roosihermiatie.....	126 – 139
Efek Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak, Buah Takokak, dan Umbi Bidara Upas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Yuli Widiyastuti, Ika Yanti M. Sholikhah, Sari Haryanti.....	140 – 149

**Pusat Penelitian dan Pengembangan
Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan**

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Kementerian Kesehatan RI

Jl. Percetakan Negara No.23 Jakarta 10560

Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai Inhibitor Karies Gigi

Identification of Bioactive Compound from Noni Fruit (*Morinda citrifolia* L.) Extract and its Potential as Dental Caries Inhibitor

Sogandi*, Putu Nilasari

Program Studi Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta, Indonesia

*E-mail: sogandi@uta45jakarta.ac.id

Diterima: 30 Januari 2019

Direvisi: 25 Mei 2019

Disetujui: 25 Juni 2019

Abstrak

Karies gigi adalah penyakit yang banyak dialami oleh masyarakat, yang terbentuk karena penumpukan plak pada gigi dan adanya bakteri. Bakteri yang diketahui terlibat dalam pembentukan karies gigi adalah *Streptococcus mutans*. Selama ini karies gigi diobati menggunakan antibiotik. Bakteri tersebut diketahui telah resisten terhadap banyak antibiotik sehingga perlu mencari alternatif lain. Salah satu pilihan alternatif sebagai antibakteri adalah buah mengkudu. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif buah mengkudu dan mengetahui mekanisme aksinya dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dimaserasi menggunakan etanol 96%, kemudian difraksinasi menggunakan n-heksan dan etil asetat. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar, dan senyawa bioaktif diidentifikasi menggunakan GCMS. Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambatan paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan zona hambat sebesar ± 17 mm serta nilai KHM (konsentrasi hambat minimum) 10% ekstrak. Mekanisme aksi penghambatan diduga dengan membuat lubang pada membran sel bakteri. Hal ini terlihat dari tingginya konsentrasi protein serta asam nukleat yang keluar dari sel setelah perlakuan yang mengindikasikan telah terjadi kebocoran sel. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki kandungan senyawa bioaktif berupa quinolone yang dapat menjadi sumber baru untuk mengatasi karies gigi.

Kata kunci: Antibakteri; Mengkudu; Karies gigi; *Streptococcus mutans*

Abstract

Dental caries is a disease that many people experience, which is formed by the buildup of plaque on the teeth and the presence of bacteria. The bacteria known to be involved in the formation of dental caries is *Streptococcus mutans*. Dental caries used to be treated using antibiotics. However, it is known that many antibiotics are no longer effective against this bacteria hence it is necessary to look for another alternative. One alternative choice as an antibacterial is Noni fruit. This study aims to identify the bioactive compounds of noni fruit (*Morinda citrifolia* L) and to know the mechanism of action in inhibiting the growth of *Streptococcus mutans*. Noni fruit was macerated using 96% ethanol, then fractionated using n-hexane and ethyl acetate. Antibacterial activity test was done using agar diffusion method, and identification of bioactive compounds was conducted using GCMS. The results showed that ethyl acetate fraction has the highest inhibitory activity on the growth of *Streptococcus mutans* with inhibition zone of ± 17 mm and MIC (minimum inhibitor concentration) value of 10%. The inhibition mechanism is assumed to be done by making holes in cell membranes, which can be seen from the high concentration of proteins and nucleic acids coming out of cells after treatment that in turn means that cell leakage has occurred. The results of this study indicate that noni fruit (*Morinda citrifolia* L) contain bioactive quinolone compounds that can be a new source for treating dental caries.

Keywords: Antibacterial; Noni fruit; Dental caries; *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Karies gigi adalah penyakit yang umum dialami oleh masyarakat di dunia. Penyakit karies gigi ini terjadi akibat penumpukkan kotoran atau plak pada gigi. Plak pada gigi terbentuk dari adanya aktivitas mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri ini merupakan bakteri asidogenik yang dapat menghasilkan senyawa asam yang dapat menyebabkan penimbunan senyawa asam pada gigi sehingga dapat menyebabkan hilangnya kalsium dan juga terkikisnya permukaan gigi. Hal ini nantinya dapat menyebabkan terjadinya karies gigi.¹

Permasalahan penyakit karies gigi yang disebabkan oleh bakteri *S. mutans* ini dapat ditangani dengan menggunakan bahan alam yang memiliki kemampuan antibakteri. Bahan alam yang sudah diketahui sebagai tanaman obat dan banyak dimanfaatkan adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).²

Ekstrak buah mengkudu sebelumnya sudah diketahui memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella Enteritidis*.³ Perasan segar buah mengkudu juga telah dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.⁴ Buah mengkudu juga dilaporkan mengandung senyawa dari golongan flavonoid yang diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri.⁵ Beberapa penelitian tersebut menunjukkan bahwa tanaman mengkudu memiliki aktivitas sebagai antibakteri, namun belum diketahui aktivitas ekstrak buah mengkudu terhadap bakteri *S. mutans* yang merupakan penyebab penyakit karies gigi. Jenis senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak buah mengkudu sebagai antibakteri juga belum pernah dilaporkan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak buah mengkudu serta mengetahui jenis senyawa bioaktif yang berperan sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang didapatkan dari BALITRO, etanol 96%, aquades, n-heksan, etil asetat, media *Blood Agar Plate* (BAP), media *Nutrient Broth* (NB), biakan bakteri *S. mutans*, dan kertas saring. Buah mengkudu yang digunakan dalam penelitian adalah buah mengkudu yang sudah matang. Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari yang selanjutnya diseleksi, dan dicuci menggunakan air mengalir sebelum dilakukan proses pengeringan.

Pengeringan sampel dan pembuatan simplisia

Sampel buah mengkudu sebanyak 5 kg dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama 24 jam sampai benar-benar kering. Simplisia yang sudah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk kecil. Selanjutnya, simplisia diayak menggunakan ayakan berukuran 30 mesh. Serbuk hasil ayakan kemudian disimpan di tempat yang kering dan terhindar dari sinar matahari langsung.

Ekstraksi buah mengkudu

Proses ekstraksi buah mengkudu menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1 kg serbuk buah mengkudu yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam bejana kaca kemudian diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan dalam waktu 24 jam dengan tiga kali pengadukan selama 3 hari. Maserat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi dengan *rotary evaporator* hingga didapat filtrat etanol dan dihitung nilai rendemennya.

Fraksinasi ekstrak buah mengkudu

Hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% berupa ekstrak kental ditimbang sebanyak 5 g, kemudian dilarutkan menggunakan campuran 75 mL

etanol 70% dan 25 mL air lalu difraksinasi dengan campuran n-heksan 100 mL. Campuran dikocok selama 2-3 menit dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu fraksi n-heksan dan fraksi air. Pemisahan campuran dilakukan dengan cara dituang dari corong pisah ke labu erlenmeyer. Fraksi air yang diperoleh kemudian difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat.⁶

Skrining fitokimia

Pemeriksaan alkaloid

Ekstrak ditimbang 0,5 gram kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL aquadest, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring.⁷ Filtrat digunakan untuk pengujian berikut ini:

Pereaksi Mayer

Tiga tetes ekstrak ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih atau kuning menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Pereaksi Bouchardat

Tiga tetes ekstrak ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat. Terbentuknya endapan coklat sampai hitam menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Pereaksi Dragendrof

Tiga tetes ekstrak ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendrof. Terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat atau merah bata menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Bila sedikitnya 2 dari 3 pereaksi di atas positif, ekstrak buah mengkudu dinyatakan mengandung senyawa alkaloid.

Pemeriksaan flavonoid

Satu mililiter ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas kemudian dididihkan dan disaring dalam keadaan panas. Sebanyak 5 mL filtrat diambil dan ditambahkan dengan 3 tetes larutan HCl dan 2 potong kecil logam magnesium. Perubahan warna yang terjadi dari kuning tua menjadi jingga menunjukkan adanya flavonoid.⁸

Pemeriksaan saponin

Satu mililiter ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas 10 mL, dikocok selama 15 menit dan diteteskan asam klorida 2N. Terbentuknya buih permanen selama kurang lebih 10 menit menandakan adanya senyawa saponin.⁷

Pemeriksaan tanin

Sebanyak 2 gram ekstrak etanol buah mengkudu dilarutkan dengan aquades panas kemudian didinginkan. Setelah itu, ditambahkan 1 mL NaCl 2% dan disaring. Filtrat dibagi 2 bagian A dan B. Filtrat A ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl₃ 5%. Positif tanin apabila terbentuk warna hitam kebiruan. Filtrat B ditambahkan gelatin. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya tanin.⁷

Steroid dan triterpenoid

Sebanyak 30 mg ekstrak ditambahkan dengan asam asetat glasial sebanyak 5 tetes dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes. Ekstrak mengandung steroid jika terbentuk warna biru atau hijau dan mengandung triterpenoid jika terbentuk warna merah atau ungu.⁸

Fenol

Sebanyak 3 mL larutan ekstrak dibagi dalam 2 bagian larutan, sebagai blanko dan sebagai larutan uji untuk direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%. Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya fenol.⁹

Uji aktivitas antibakteri

Persiapan media

Semua alat dan bahan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media agar yang telah steril didinginkan hingga suhu 45 – 50 °C lalu ditambahkan 5% darah kambing. Media dituang ke dalam cawan dan ditunggu hingga memadat.¹⁰

Regenerasi bakteri uji

Penanaman bakteri *S. mutans* pada media agar darah dilakukan dengan cara kapas lidi steril dicelupkan ke dalam

suspensi bakteri terlebih dahulu, kemudian dioleskan di atas permukaan media.

Pengukuran aktivitas antibakteri

Ekstrak dari fraksi etanol, n-heksan, etil asetat, kontrol positif (ampicillin) dan kontrol negatif (aquadest) diteteskan pada kertas cakram dan diletakkan di atas permukaan media yang sebelumnya sudah dilakukan pembiakan bakteri. Cawan petri diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (triplo). Hasil zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.¹¹

Uji konsentrasi hambat minimum (KHM)

Uji KHM dilakukan dengan metode dilusi cair menggunakan media *nutrient broth* (NB) kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-VIS sebelum dan sesudah inkubasi untuk melihat adanya pertumbuhan bakteri uji. Sebanyak 10 mL media NB steril yang berisi ekstrak dengan konsentrasi akhir 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Pengukuran kerapatan optik (*Optical Density*, OD) bakteri sebelum dan sesudah diinkubasi selama 24 jam dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 600 nm.¹⁰

Mekanisme aksi

Analisis kebocoran sel

Kebocoran protein dan asam nukleat dianalisis dengan membandingkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm sebelum dan sesudah diberikan perlakuan.

Sebanyak 5 mL kultur bakteri uji yang sudah diinkubasi selama 18 jam disentrifugasi pada kecepatan 6000 g selama 5 menit hingga diperoleh endapan sel bakteri. Endapan sel bakteri tersebut dicuci dengan *buffer* fosfat pH 7.0 dan diulang pencucian selama 3 kali.

Endapan sel disuspensikan dalam 10 mL larutan *buffer* fosfat pH 7.0, ditambahkan ekstrak mengkudu dengan konsentrasi akhir larutan adalah 1× dan 2× MIC, kemudian diinkubasi kembali dengan

shaker inkubator pada kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Kultur bakteri hasil inkubasi disentrifuse pada kecepatan 6000 g selama 5 menit hingga diperoleh supernatan dan endapan pelet, supernatan diukur serapannya pada panjang gelombang 260 nm untuk melihat kebocoran asam nukleat dan 280 nm untuk kebocoran protein.¹²

Identifikasi senyawa bioaktif

Senyawa bioaktif dari ekstrak buah mengkudu dianalisis menggunakan instrumen GCMS (Agilent Technologies 7890) untuk mengidentifikasi jenis komponen kimia dari fraksi teraktif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Jenis kolom yang digunakan yaitu HP Ultra 2 Capillary Column (30 m × 0.20 mm LD, 0.11 µm *film thickness*). Temperatur kolom 250 °C, gas pembawa helium dengan laju alir 30 cm/detik, rasio 1/30, temperatur sumber ion 230 °C, dan suhu ion permukaan 280 °C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan penelitian yang pertama dilakukan adalah determinasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor untuk memastikan spesies buah mengkudu yang digunakan adalah benar buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Berdasarkan hasil determinasi, tanaman yang menjadi sampel dalam penelitian ini adalah benar dari tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang termasuk dalam famili Rubiaceae.

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan tujuan agar tidak ada zat aktif yang rusak oleh pemanasan karena metode maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara dingin serta paling mudah dikerjakan. Dari hasil maserasi 1 kg serbuk kering buah mengkudu didapatkan ekstrak kental sebanyak 199,9 g dengan persen rendemen 19,99 % dan susut penguapan 8,93 %.

Hasil fraksinasi n-heksan dan etil asetat tersebut didapat sebanyak 100 mL.¹³

Hasil organoleptik menunjukkan bahwa sifat dari ekstrak etanol buah mengkudu memiliki bentuk ekstrak kental, warna kuning kecoklatan, rasanya pahit dan berbau khas buah mengkudu. Ekstrak etanol buah mengkudu mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan fenol (Tabel 1).

Tabel 1. Senyawa fitokimia ekstrak etanol buah mengkudu

Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tannin	+
Steroid	+
Triterpenoid	-
Fenol	+

Fraksinasi ekstrak etanol dilakukan secara bertahap agar semua bahan yang diinginkan dapat larut dalam satu pelarut dan bahan yang tidak diinginkan larut dalam pelarut yang lain.¹⁴ Fraksinasi ini menghasilkan dua lapisan ekstrak, yaitu lapisan atas berwarna kuning dan lapisan bawah berwarna coklat. Lapisan bawah merupakan ekstrak air dan etanol yang terjadi karena massa jenis n-heksan (0,4 mg/L) lebih kecil daripada massa jenis air (1 mg/L). Kedua lapisan ini kemudian dipisahkan dan diuapkan di atas penangas air. Fraksi n-heksan yang diperoleh selanjutnya difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Proses fraksinasi ini menghasilkan tiga lapisan cairan. Lapisan yang paling bawah adalah air dan lapisan di tengah berwarna merah kecoklatan adalah fraksi dari etil asetat sedangkan yang paling atas adalah fraksi etanol. Pemisahan tersebut terjadi karena perbedaan berat jenis. Air yang memiliki berat jenis lebih besar dari etil asetat (0,894 g/mL) dan etanol (0,789 g/mL) berada di lapisan paling bawah. Fraksi etil asetat yang diperoleh kemudian diuapkan.

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian diuji kandungan senyawa fitokimianya. Pengujian alkaloid

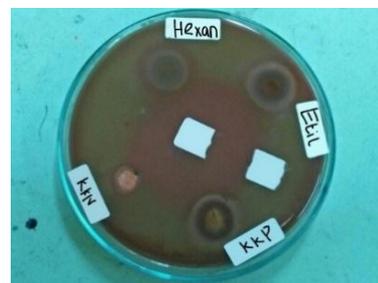
menggunakan pereaksi Meyer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Pengujian dengan pereaksi Dragendorff juga menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda yang diakibatkan oleh atom nitrogen membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam kalium (K^+).¹⁵

Ekstrak buah mengkudu juga mengandung saponin yang bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti air walaupun saponin juga memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin).⁸ Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan oleh adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya.

Identifikasi flavonoid menunjukkan warna jingga yang berarti positif adanya flavonoid. Magnesium dan asam klorida pada uji ini bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H_2 , sedangkan logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi jingga.¹⁶

Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan diameter kertas cakram 6 mm. Hasil pengujian ini ditampilkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengujian aktivitas antibakteri

Berdasarkan hasil penelitian ini, tampak zona hambat yang berbeda-beda. Kontrol positif yang digunakan dapat

menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri. Fraksi yang memiliki daya hambat paling besar adalah fraksi etil asetat sehingga fraksi etil asetat buah mengkudu dilanjutkan ke tahap pengujian konsentrasi hambat minimum. Hasil pengujian berupa diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas antibakteri ekstrak buah mengkudu

Sampel	Diameter zona hambat (mm)
Kontrol negatif	6.00 ± 0.00
Kontrol positif	19.74 ± 0.32
Ekstrak etanol	15.07 ± 0.18
Fraksi n-heksan	13.61 ± 0.31
Fraksi etil asetat	17.41 ± 0.35

Perbedaan diameter zona hambat kemungkinan disebabkan oleh kandungan senyawa antibakteri yang berbeda dan adanya zat-zat aktif yang mengandung senyawa yang bersifat antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan fenolik.¹⁷⁻¹⁹

Uji konsentrasi hambat minimum (KHM)

Pengujian konsentrasi hambat minimum dilakukan menggunakan sampel hasil fraksinasi dengan pelarut etil asetat.

Tabel 3. Pengukuran KHM

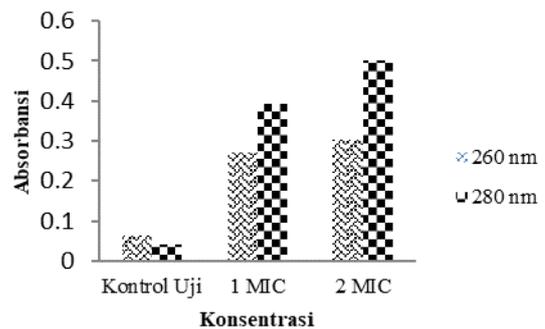
Konsentrasi sampel	Rata-rata absorbansi
5%	0.446 ± 0.009
10%	0.074 ± 0.032
15%	0.052 ± 0.037
20%	0.037 ± 0.064
25%	0.022 ± 0.072

Berdasarkan pengujian nilai KHM yang dilakukan pada konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25% terlihat pada konsentrasi 5% masih terdapat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan tingginya nilai absorbansi. Sementara itu, pada konsentrasi 10% nilai absorbansi turun secara signifikan menjadi 0,074. Hal ini menandakan sudah tidak adanya

pertumbuhan bakteri *S. mutans* pada konsentrasi 10%.

Analisis kebocoran sel

Pemberian fraksi etil asetat buah mengkudu terhadap bakteri *S. mutans* dapat menyebabkan kebocoran sel yang berakibat pada kematian bakteri. Kebocoran akibat rusaknya sel dapat dideteksi dengan melihat nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 dan 280 nm untuk mengetahui kebocoran asam nukleat dan protein. Senyawa-senyawa yang memberikan serapan pada panjang gelombang 260 nm adalah RNA dan DNA sedangkan pada panjang gelombang 280 nm diidentifikasi sebagai protein. Panjang gelombang 260 nm dapat mendeteksi purin, pirimidin, dan ribonukleotida, sedangkan panjang gelombang 280 nm dapat mendeteksi asam amino seperti tirosin dan triptofan.¹⁹



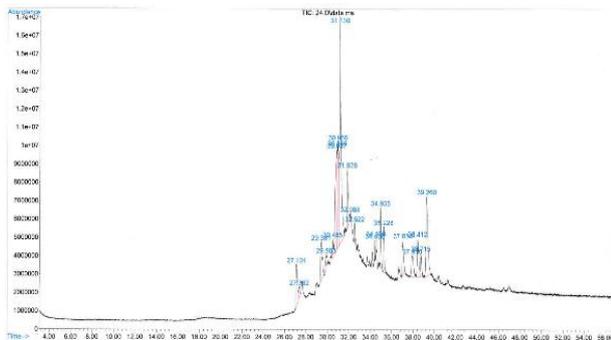
Gambar 2. Kebocoran protein dan asam nukleat pada bakteri *S. mutans*

Kebocoran sel yang merupakan salah satu penyebab terjadinya kematian bakteri dianalisis dengan melihat jumlah komponen sel yang keluar setelah diberi perlakuan. Gambar 2 menunjukkan telah terjadi peningkatan jumlah asam nukleat dan protein yang keluar dari sel setelah diberikan ekstrak buah mengkudu fraksi etil asetat dengan konsentrasi 1 KHM dan 2 KHM yang menandakan bahwa sel bakteri telah mengalami kebocoran. Kebocoran sel pada bakteri uji diduga karena adanya kandungan senyawa fenolik.⁶ Senyawa fenolik akan bereaksi dengan komponen fosfolipid dari membran sel yang menyebabkan terjadinya

perubahan permeabilitas membran sel sehingga komponen intraseluler seperti asam amino, asam nukleat serta protein akan keluar.¹⁹ Peningkatan nilai absorbansi untuk asam nukleat dan protein pada 1 KHM dan 2 KHM menunjukkan terjadi peningkatan kebocoran pada sitoplasma. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terdeteksi atau semakin meningkat pula kebocoran sel.⁶

Analisis GCMS

Hasil identifikasi senyawa bioaktif menggunakan GCMS menunjukkan adanya beberapa senyawa turunan dari alkaloid, terpenoid dan steroid. Kemampuan fraksi etil asetat ekstrak buah mengkudu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* terjadi karena adanya kandungan berupa senyawa turunan alfa amyirin, pinene dan quinolone. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri.²⁰



Gambar 3. Kromatogram hasil GCMS fraksi etil asetat buah mengkudu

Hasil identifikasi senyawa dari fraksi etil asetat buah mengkudu menggunakan GCMS pada Gambar 3 dan Tabel 4 menunjukkan adanya beberapa senyawa. Urutan senyawa dengan kandungan tertinggi adalah sebagai berikut: pertama adalah senyawa 3-chloro-8-methylthio-11H-indol-[3,2-c] quinolone dengan waktu retensi 31,30 dan kandungan 26,09%; tertinggi kedua 5-Pregnen-3β-ol-20 one-trifluoroacetate dengan waktu retensi

30,840 dan kandungan 12,17%; tertinggi ketiga α-amyirin dengan waktu retensi 39,260 dan kandungan 11,29%; tertinggi keempat pinene dengan waktu retensi 27,103 dan kandungan 4,85%; tertinggi kelima (2E)-3, 7, 11, 15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol dengan waktu retensi 29,379 dan kandungan 4,43%; tertinggi keenam stigmasterol dengan waktu retensi 37,032 dan kandungan 3,21%.

Tabel 4. Hasil GCMS fraksi etil asetat buah mengkudu

RT (menit)	Nama Senyawa	Kandungan (%)
31,130	3-Chloro-8-methylthio-11H-indolo[3,2-c] quinolone	26,09
30,840	5-Pregnen-3β-ol-20-one-trifluoroacetate	12,17
39,260	α-Amyrin	11,29
27,103	Pinene	4,85
29,379	(2E)-3,7,11,15-Tetramethyl-2-Hexadecen-1-OL	4,43
37,032	Stigmasterol	3,21

Kandungan bioaktif tertinggi yang terdapat pada fraksi etil asetat adalah quinolone. Quinolone diduga merupakan komponen utama pada ekstrak buah mengkudu pada waktu retensi 31,130 menit dengan kandungan 26,09%. Hasil identifikasi GCMS ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2017) yang mengungkapkan senyawa tertinggi dari buah mengkudu adalah digitoksigenin yang merupakan golongan senyawa steroid dalam bentuk kardenolida.²¹ Penelitian Athiana (2014) mengungkapkan bahwa minyak atsiri buah mengkudu setidaknya terdiri dari 19 senyawa dengan komponen utama etil oktanoat sekitar 40,88% pada penggunaan pelarut heksan, sedangkan pada penggunaan etil asetat dan kloroform komponen utamanya adalah asam oktanoat sekitar 74,96% dan 61,91%.²² Senyawa pada ekstrak buah mengkudu ini juga berbeda dengan senyawa yang dihasilkan oleh bakteri endofit hasil isolasi dari buah

mengkudu dengan komponen utamanya adalah golongan pyrazine.²³

Senyawa quinolone yang terkandung dalam buah mengkudu merupakan senyawa yang bersifat non polar. Senyawa quinolone mempunyai daya antibakteri yang kuat dan berspektrum luas sehingga biasa digunakan untuk mengatasi infeksi sistemik.²⁴

Senyawa quinolone termasuk dalam kategori antibiotik dengan mekanisme kerjanya adalah menghambat pembentukan inti sel dengan menghambat kerja enzim DNA girase pada bakteri sehingga terjadi gangguan dalam proses replikasi dan transkripsi.²⁵

Alpha amyirin dan pinene merupakan salah satu dari golongan terpenoid. Terpenoid sebagai antibakteri bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin.¹¹ Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.²⁶

Stigmasterol yang terdapat pada buah mengkudu merupakan senyawa turunan dari steroid.^{16,26} Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom.²⁷ Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis.²⁸

KESIMPULAN

Penelitian ini mengungkapkan bahwa ekstrak etil asetat buah mengkudu memiliki potensi untuk menghambat pembentukan karies gigi melalui mekanisme aksi yang diduga dengan

membuat lubang pada membran sel bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. Selain itu, diketahui kandungan senyawa bioaktif dominan dalam ekstrak buah mengkudu adalah senyawa golongan quinolone.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Penelitian Kompetitif Nasional dengan nomor kontrak 135/LPPM/KP.PDP/IV/2018.

DAFTAR RUJUKAN

1. Asymal A, Astuti ER, Devijanti R. Changes in the number of macrophage and lymphocyte cell in chronic periodontitis due to dental X-ray exposure. *Dental Journal*. 2018;51(2): 99-103.
2. Soni A, Jain R, Kashaw V. Antibacterial activity of *Morinda citrifolia* Linn fruits for acne inducing pathogens. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research*. 2016;8(1):208-214.
3. Yang J, Afaisen SJ, Gadi R. Antimicrobial activity of noni fruit essential oil on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Enteritidis*. *Micronesica*. 2016;5:1-10.
4. Malingas F, Pangemanan DHC, Mariati NW. Uji daya hambat ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro. *Pharmacon*. 2015 Nov;4(4):22-26.
5. Darwis W, Sari VA, Muslim C. Efektivitas sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *Salmonella typhi*. *Konservasi Hayati*. 2010 April;6(1):6-12.
6. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 2013;5(Suppl 4):679-684.
7. Teanpaisan R, Kawsud P, Pahumunto N, Puripattanavong J. Screening for antibacterial and antibiofilm activity in Thai medicinal plant extract against oral microorganisms. 2016. *Journal of*

- Traditional and Complementary Medicine. 2017 Apr;7(2):172-7.
8. Harborne JB. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi 3. Bandung: Penerbit ITB; 1996.
 9. Paramita DZ, Wahyudi MT. Antibacterial effect of green tea (*Camellia sinensis*) to *Staphylococcus aureus* in vitro. Jurnal Medika Planta. 2011 April;1(3):67-74.
 10. Fatisa Y. Daya antibakteri ekstrak kulit dan biji buah pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. Jurnal Peternakan. 2013;10(1):31-38.
 11. Oktanauli P, Nuning F, Lidiawati. Efek antimikroba polifenol teh hijau terhadap *Streptococcus mutans*. Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi. 2011;8(2):19-23.
 12. Sogandi, Mustopa AZ, Artika IM, Budiarto BR. Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* U10 isolated from tempoyak (fermented durian) made in Indonesia against *Salmonella typhi*. Microbiology Indonesia. 2015;9(2):73-81.
 13. Kusbandari A. Analisis kualitatif kandungan sakarida dalam tepung dan pati umbi ganyong (*Canna edulis* Ker.). Pharmacia. 2015;5(1): 35-42.
 14. Damar AC, Runtuwene MRJ dan Wewengkang DS. Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan dan total ekstrak etanol daun kayu kapur. Pharmacon. 2014 Nov;3(4):11-21.
 15. Zakaria ZA, Zaiton H, Henie EFP, Mat Jais AM, and Engku Zainuddin ENH. In vitro antibacterial activity of *Averrhoa bilimbi* L. leaves and fruits extracts. International Journal of Tropical Medicine. 2007;2(3):96-100.
 16. Wilson W, Pawestri YA, Sembiring L. Isolasi, karakterisasi dan skrining antimikroba bakteri endofit tanaman Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk). Jurnal Labora Medika. 2017.1(1):1-6.
 17. Dzoyem JP, Melong R, Tsamo AT, Maffo T, Kapche DGWF, Ngadjui BT, et al. Cytotoxicity, antioxidant and antibacterial activity of four compounds produced by an endophytic fungus *Epicoccum nigrum* associated with *Entada abyssinica*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2017 April;27(2):1-3.
 18. Hu HQ, Li XS, He H. Characterization of an antimicrobial material from a newly isolated *Bacillus amyloliquefaciens* from mangrove for biocontrol of *Capsicum* bacterial wilt. Biological Control. 2010 September; 54(3):359 – 365.
 19. Cavalieri SJ. Manual of antimicrobial susceptibility testing. Virginia: American Society for Microbiology; 2009.
 20. Park SN, Lim YK, Choi MH, Cho E, Bang IS, Kim JM, et al. Antimicrobial mechanism of oleanolic and ursolic acid on *Streptococcus mutans* UA159. Current Microbiology. 2018 Jan;75(1):11-19.
 21. Rahmawati M, Hidajati N. Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan mengkudu (*Morinda citrifolia* L). UNESA Journal of Chemistry. 2017;6(2):113-118.
 22. Athiana AF. Identifikasi komposisi minyak atsiri tanaman berbau tidak sedap menggunakan ekstraksi distilasi uap simultan [skripsi]. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia; 2014.
 23. Sogandi, Nilasari P. Isolation and molecular identification of Endophytic bacteria from Noni fruits (*Morinda citrifolia*. L) and their antibacterial activity. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; 2019;299:1–11. doi: 10.1088/1755-1315/299/1/012020
 24. Heeb S, Fletcher MP, Chhabra SR, Diggle SP, Williams P, Cámara M. Quinolones: from antibiotics to autoinducers. FEMS Microbiology Reviews. 2011 Mar;35(2):247-274.
 25. Warganegara E, Restiana D. Getah jarak (*Jatropha curcas* L.) sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada karies gigi. Medical Journal of Lampung University. 2016;5(3):63-67.
 26. Martinez-Klimova E, Rodríguez-Peña K, Sánchez S. Endophytes as source of antibiotics. Biochemical Pharmacology. 2017 June;134:1-17.
 27. Khan JA, Kumar N. Evaluation of antibacterial properties of extract of *Piper betle* leaf. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences. 2011;11:1-3.
 28. Lestari W. Isolasi dan uji antifungal bakteri endofit dari akar tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*). Simbiosis. 2017;6(1):48-56.

Efek Dua Sediaan Ramuan Jamu pada Pasien Obesitas: Studi Klinis dengan Desain Paralel, Random dan Tidak Tersamar

The Effect of Two Preparation “Jamu” Formulas in Obesity Patients: A Randomized, Parallel and Open Label Design Clinical Study

Zuraida Zulkarnain, Ulfatun Nisa*, Enggar Wijayanti, Ulfa Fitriani

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional
Tawangmangu, Karanganyar, Indonesia
*E-mail: redfa01@gmail.com

Diterima: 28 Maret 2019

Direvisi: 13 Mei 2019

Disetujui: 30 Juli 2019

Abstrak

Obesitas merupakan komorbiditas terhadap penyakit kardiovaskular, diabetes, dan penyakit metabolik lain, dimana prevalensinya meningkat tiap tahun. Pemanfaatan jamu menjadi salah satu alternatif pilihan untuk mengatasi obesitas. Observasi klinis terhadap air rebusan ramuan jamu (jati belanda, kemuning, kelembak dan tempuyung) telah dilakukan untuk terapi obesitas yang terbukti berkhasiat menurunkan Berat Badan (BB) dan Indeks Massa Tubuh (IMT). Inovasi ke bentuk sediaan seduhan dinilai lebih praktis dibanding rebusan. Penelitian *open label randomized control trial* dengan paralel desain dilakukan untuk menilai kesetaraan khasiat penggunaan jamu berbentuk rebusan dan seduhan. Jumlah subjek masing-masing kelompok 30 subjek, merupakan pasien Rumah Riset Jamu (RRJ) Hortus Medicus selama Juni-Oktober 2016 yang memenuhi kriteria inklusi. BB dan IMT diukur pada hari ke-0, ke-28 dan ke-56, sedangkan tinggi badan diukur satu kali saat hari ke-0. Baik kelompok rebusan maupun seduhan meminum jamu 2 kali sehari selama 56 hari. Pada akhir, diketahui rerata penurunan BB kelompok rebusan 67,35 kg menjadi 66,37 kg, sedangkan kelompok seduhan 67,41 kg turun menjadi 66,45 kg. IMT kelompok rebusan 26,85 kg/m² turun menjadi 26,46 kg/m², pada kelompok seduhan 26,67 kg/m² menjadi 26,29 kg/m². Hasil uji statistik untuk membandingkan BB dan IMT kedua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan, tidak terdapat perbedaan signifikan pada dua kelompok ($p > 0,05$). Ramuan jamu untuk obesitas bentuk seduhan mampu menurunkan BB dan IMT sebanding dengan bentuk rebusan.

Kata kunci: Ramuan jamu; Obesitas; Indeks Massa Tubuh

Abstract

Obesity is a co-morbidity of cardiovascular disease, diabetes, and other metabolic diseases, which the prevalence increases every year. The use of herbal medicine is an alternative choice to overcome obesity. Clinical observation of decoction of herbal medicine (Dutch teak, kemuning, rhei radix and tempuyung) has been conducted for obesity therapy which has been proven to be effective in reducing body weight and body mass index (BMI). Innovation in steeping form is considered more practical than stew. Randomized open label parallel design research was carried out to assess the equal efficacy of the herbs in stew and steeping form. The number of subjects in each group were 30 subjects, they were patients of of Rumah Riset Jamu (RRJ) Hortus Medicus during June-October 2016 who met the inclusion criteria. BW and BMI are measured on Day-0, 28 and 56, while body height is measured once at Day-0. Both stew and steeping groups drank herbs twice a day for 56 days. At the end of the study, it was found that the mean of declining BW of the decoction group was 67.35 kg to 66.37 kg, while the steeping group 67.41 kg to 66.45 kg. BMI of stew group was decreased 26.85 kg / m² to 26.46 kg / m², while in steeping group 26.67 kg / m² to 26.29 kg / m². Statistic test result to compare BW and BMI of both two groups before and after treatment showed no significant differences in the two groups ($p > 0.05$). The ability of herbal medicines in steeping or stew forms can reduce the BW and BMI equally.

Keywords: Jamu formula; Obesity; Body Mass Index

PENDAHULUAN

Saat ini obesitas menjadi perhatian utama di seluruh negara pada semua kelompok umur karena komplikasi yang disebabkan antara lain sindroma metabolik, diabetes melitus tipe 2, stroke, penyakit kardiovaskuler dan kanker.¹ Definisi obesitas menurut WHO adalah kondisi dimana adanya akumulasi lemak tubuh yang berlebihan dengan Indeks Massa Tubuh (IMT) yaitu Berat Badan (BB) dibagi Tinggi Badan kuadrat (TB)² >25 kg/m², hal tersebut terjadi karena ketidakseimbangan antara intake kalori (lemak dan makanan manis) dengan energi yang dikeluarkan.²

Prevalensi obesitas berkisar antara 10-40% dalam 10 tahun terakhir ini di Eropa. Obesitas meningkat tiga kali lipat atau lebih sejak tahun 1980 di beberapa wilayah Amerika Utara, Inggris, Eropa Timur, Timur Tengah, Australia dan epidemi obesitas di China.³ Berdasarkan data Rikesdas tahun 2013, prevalensi gizi lebih secara nasional pada remaja umur 13-15 tahun di Indonesia sebesar 10,8%, terdiri dari 8,3% gemuk dan 2,5% sangat gemuk atau obesitas. Prevalensi gizi lebih pada remaja umur 16-18 tahun mengalami peningkatan yang signifikan dari tahun 2007 sebesar 1,4% menjadi 7,3%.⁴ Berdasarkan hasil Riskesdas 2018 proporsi obesitas pada dewasa berumur >18 tahun sebesar 21,8%.⁵

Tata laksana obesitas meliputi pengaturan asupan makanan sesuai dengan kebutuhan kalori, olah raga dan terapi dengan obat.⁶ Bagi penderita obesitas yang tidak bisa membatasi asupan makanannya dan malas berolah raga, konsumsi obat pelangsing menjadi salah satu pilihan praktis dalam upaya menurunkan berat badan. Di Indonesia saat ini banyak obat dengan klaim sebagai penurun berat badan baik yang bahan dasarnya tanaman ataupun kimia beredar di pasaran. Namun hanya sedikit yang telah memiliki data klinis tentang keamanan dan khasiatnya. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan

Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) sesuai dengan tupoksinya untuk memberikan data ilmiah keamanan dan khasiat jamu asli Indonesia melakukan serangkaian uji klinik terhadap salah satu ramuan penurun berat badan yang terdiri dari daun jati belanda, daun kemuning, daun tempuyung dan akar kelembak. Hasil observasi klinis daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lam.) 10 gram, daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) 10 gram, akar kelembak (*Rheum officinale*) 4 gram dan herba tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) 10 gram telah dilakukan pada tahun 2011 terhadap 33 subjek selama 56 hari berkhasiat menurunkan BB sebesar 3,6 kg dan IMT sebesar 1,36 kg/m².⁷

Penggunaan ramuan tersebut dalam bentuk rebusan kurang praktis sehingga perlu dikembangkan bentuk sediaan lain. Karena sediaan jamu mempengaruhi kepatuhan dan kontinuitas minum jamu untuk itu perlu dilakukan studi klinis terhadap berbagai sediaan yang terdiri dari daun jati belanda, kemuning, akar kelembak dan daun tempuyung sebagai anti obesitas. Penelitian ini bertujuan mengetahui kesetaraan khasiat bentuk seduhan dibandingkan rebusan ramuan jamu di atas dalam menurunkan berat badan dan IMT pasien obesitas di Rumah Riset Jamu (RRJ) Hortus Medicus Tawangmangu.

METODE

Penelitian dilakukan di RRJ Hortus Medicus milik Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu (B2P2TO2T). Penelitian ini menggunakan desain penelitian *open label randomized control trial*, dengan *parallel design* untuk menilai kesetaraan kemanfaatan penggunaan jamu penurun berat badan berbentuk rebusan dan seduhan, yang berlangsung dari bulan Juni hingga Desember 2016. Besar sampel ditentukan dengan *Tables of minimum size two side* dari Lwanga dan Lameshow (1991).⁸ Berdasarkan hipotesis rebusan

kering ramuan jamu menurunkan berat badan 80% subjek penelitian, sedangkan seduhan serbuk ramuan jamu menurunkan 50% subjek penelitian, dengan tingkat keyakinan 90%, dan tingkat signifikansi 5% dengan perkiraan drop out atau lost of follow sebesar 20% didapatkan jumlah subjek pada masing-masing kelompok 30 orang.

Alat dan bahan

Alat

Semua subjek pada penelitian ini ditimbang dan diukur tinggi badannya menggunakan alat yang sama yaitu Seca 703 1321007 yang telah dikalibrasi secara berkala.

Bahan

Bahan baku yang digunakan berupa simplisia yang dilakukan determinasi dan dikontrol kualitasnya oleh tim *Quality Control* laboratorium B2P2TO2T Tawangmangu. Angka lempeng total mikroba $\leq 10^7$ koloni/gram dan kadar air $\leq 10\%$. Pengendalian mutu simplisia mengacu pada Peraturan Kepala BPOM No.12 tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional.⁹ Dosis harian ramuan jamu untuk penurunan berat badan yaitu daun jati belanda 10 gram, kemuning 10 gram, akar kelembak 4 gram dan daun tempuyung 10 gram. Pada bentuk rebusan, simplisia dengan dosis di atas dikemas dalam satu kantong kertas. Bentuk seduhan, serbuk ramuan jamu dengan dosis di atas dibagi menjadi dua kemasan plastik.

Prosedur kerja

Kriteria inklusi subjek: usia 18 - 60 tahun, laki-laki atau perempuan, IMT >23 kg/m² bersedia mengikuti penelitian / jadwal *follow up* dengan menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi: perempuan hamil atau menyusui (berdasarkan pengakuan), subjek mengkonsumsi obat yang mempengaruhi terhadap kondisi yang diobservasi, mempunyai penyakit penyerta lain yang mempengaruhi kondisi klinis (misal

penyakit metabolik: diabetes melitus, dislipidemia) atau dengan komplikasi penyakit berat (kanker stadium lanjut, jantung, gagal ginjal).

Sediaan seduhan adalah dengan menambahkan / menyiram air panas pada ramuan jamu yang telah dibentuk serbuk, sedangkan sediaan rebusan adalah dengan merebus ramuan jamu menjadi bentuk infusa yang siap diminum. Tiap subjek yang mendapat sediaan seduhan harus menyeduh serbuk ramuan jamu, masing-masing satu kemasan pada pagi dan sore hari. Aturan cara penggunaan jamu yakni satu kemasan jamu diseduh dengan satu gelas (200 cc) air mendidih hingga larut, kemudian ditunggu hingga sebagian serbuk mengendap, dan air seduhan menjadi hangat. Air seduhan tersebut diminum hingga habis dan tinggal endapan serbuk. Subjek yang mendapat sediaan rebusan diberi aturan cara merebus dan cara minum jamu, yakni satu kemasan direbus dengan 4 gelas (800 cc) air sampai mendidih sehingga air tinggal 2 gelas (400 cc) diminum pagi 200 cc dan sore 200 cc, satu kemasan untuk satu hari, hari berikutnya merebus kemasan yang baru untuk diminum kembali seperti sebelumnya. Bahan uji diberikan setiap 7 hari. Pada saat subjek datang untuk mengambil bahan uji dilakukan penimbangan, sedangkan pengukuran TB dilakukan satu kali pada saat subjek datang pertama kali.

Persetujuan etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan dengan Nomor LB.02.01/5.2/KE.313/2016 tanggal 13 Mei 2016.

Analisis data

Analisis data statistik untuk membandingkan efektifitas penggunaan jamu pada kedua kelompok menggunakan uji *t* tidak berpasangan jika data terdistribusi normal dan uji statistik *Mann Whitney* jika data tidak terdistribusi normal.

Analisis untuk mengetahui perbedaan rerata IMT dan BB sebelum dan sesudah intervensi dalam satu kelompok menggunakan uji t berpasangan apabila data terdistribusi normal dan uji *Wilcoxon* apabila data tidak terdistribusi normal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua subjek mengikuti prosedur penelitian sampai selesai. Pada Tabel 1 diketahui jumlah subjek wanita yang ikut dalam penelitian ini lebih banyak, pada kelompok rebusan 90% dan pada kelompok seduhan sebanyak 73,3%. Hal ini sesuai dengan hasil Riskesdas tahun 2013, dimana prevalensi wanita usia lebih 18 tahun dengan obesitas (IMT >25 kg/m²) sebesar 32,9% dan pria 19,7%.⁴ Rata-rata usia subjek terbanyak antara 40-50 tahun. Terdapat perbedaan bermakna rerata usia subjek rebusan (41,1 tahun) dengan subjek seduhan (47,67 tahun). Semakin bertambahnya usia semakin meningkatkan prevalensi obesitas karena terjadi peningkatan masa lemak, penurunan masa

non lemak dan penurunan masa tulang.¹⁰

Pada penelitian ini terdapat satu orang subjek pada kelompok rebusan dan satu subjek pada kelompok seduhan dengan kondisi pre obesitas sesuai dengan klasifikasi WHO terkait obesitas untuk wilayah Asia pasifik (Tabel 1,2).

Baik pada kelompok rebusan maupun seduhan terjadi penurunan BB setelah intervensi. Hasil uji statistik t berpasangan yang membandingkan rerata BB pada hari ke-0 dengan hari ke-28 dan 56 didapatkan nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan rerata BB pada H-28 dibanding H-0 dan H-56 dibanding H-0. Demikian juga dengan hasil uji statistik *Wilcoxon* yang membandingkan IMT H-28 dan H-56 dengan H-0 baik pada kelompok pada kelompok seduhan didapatkan $p < 0,05$. Hasil uji t tidak berpasangan pada H-0 dan H-28 serta uji *Mann Whitney* pada H-56 menunjukkan $p > 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan rerata BB antara kedua kelompok. (Tabel 3)

Tabel 1. Data demografik subjek penelitian

Variabel	Kelompok		p
	Rebusan (n=30)	Seduhan (n=30)	
Jenis kelamin			
Pria	3 (10%)	8 (26,70%)	0,18*
Wanita	27 (90%)	22 (73,30%)	
Umur	41,10 ± 9,39	47,67 ± 9,73	0,01**
Pendidikan			
Pendidikan tinggi (D3/S1)	9 (30%)	7 (23,33%)	0,89*
SMA	15 (50%)	16 (53,34%)	
SMP	6 (20%)	7 (23,33%)	
Pekerjaan			
Ibu Rumah Tangga	7 (23,33%)	5 (16,67%)	0,57*
Wiraswasta	11 (36,67%)	14 (46,66%)	
PNS	4 (13,33%)	7 (23,33%)	
Pegawai Swasta	3 (10%)	2 (6,67%)	
Petani	5 (16,67%)	2 (6,67%)	
Status BB berdasarkan IMT			
Pre obesitas	1 (3,33%)	1 (3,33%)	0,57*
Obesitas I	29 (96,67%)	28 (93,34%)	
Obesitas II	0 (0%)	1 (3,33%)	

*uji Chi square , ** uji t tidak berpasangan pada taraf kepercayaan 95%

Tabel 2. Klasifikasi obesitas untuk wilayah Asia Pasifik^{11,12}

IMT (BB/TB ²)	Klasifikasi
<18,5	Underweight
18,5-22,9	Normal
23,0-24,9	Overweight (pre obesitas)
≥25	Obese

Tabel 3. Rerata berat badan (BB)

Hari	Rerata BB (kg)				
	Rebusan (n=30)		Seduhan (n=30)		
H-0	67,35 ± 7,15		67,41 ± 7,24		0,971 ^c
H-28	66,85 ± 7,16	0,001 ^a	66,92 ± 7,07	0,006 ^b	0,971 ^c
H-56	66,37 ± 7,28	0,000 ^a	66,45 ± 6,88	0,001 ^b	0,982 ^d

^a = uji t berpasangan dan ^b = uji *Wilcoxon* membandingkan antara H-0 dengan H-28 dan H-56,

^c = uji t tidak berpasangan, ^d = uji *Mann Whitney* pada taraf kepercayaan 95%

Tabel 4. Rerata IMT

Hari	Rerata IMT (kg/m ²)				
	Rebusan (n=30)		Seduhan (n=30)		
H-0	26,85 ± 1,49		26,67 ± 1,55		0,416 ^d
H-28	26,65 ± 1,53	0,002 ^b	26,43 ± 1,35	0,010 ^b	0,535 ^d
H-56	26,46 ± 1,68	0,001 ^b	26,29 ± 1,45	0,002 ^b	0,871 ^d

^b = uji *Wilcoxon* membandingkan H-0 dengan H-28 dan H-56, ^d = uji *Mann Whitney*, taraf kepercayaan 95%

IMT setelah 56 hari intervensi juga mengalami penurunan. Berdasarkan uji *Wilcoxon* baik pada kelompok rebusan maupun seduhan didapatkan nilai $p < 0,05$ yang berarti ada perbedaan rerata IMT H-28 dan H-56 dibandingkan H-0. Tidak terdapat perbedaan bermakna IMT antara kedua kelompok pada H-0, H-28 dan H-56 (hasil uji *Mann Whitney* $p > 0,005$). (Tabel 4)

Obesitas dipengaruhi oleh beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan energi, meliputi faktor genetik, fisiologi, sosiokultural, psikologi dan lingkungan. Pengobatan yang tepat dalam mengatasi obesitas dengan perubahan gaya hidup, modifikasi makanan dan peningkatan aktivitas fisik.⁶ Berdasarkan penelitian mekanisme tanaman herbal dalam menurunkan BB melalui penurunan absorpsi lemak, intake energi, dan lipogenesis selain itu juga meningkatkan lipolisis dan *energy expenditure*.¹³

Penurunan berat badan yang aman pada pasien obesitas yaitu antara 0,5-1 kg per minggu.¹⁴ Hasil penelitian menunjukkan

rerata BB setelah minum jamu mengalami penurunan sebanyak 0,98 kg pada kelompok rebusan dan 0,96 kg pada kelompok seduhan. Sebanyak 8 subjek pada kelompok rebusan dan 10 subjek pada kelompok seduhan justru mengalami peningkatan berat badan.

Ramuan jamu yang terdiri dari 4 tanaman obat, masing-masing memiliki efek yang saling mendukung. Kandungan kimia aktif alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, musilago, karotenoid, asam fenol, dan damar pada daun jati belanda dapat mendegradasi lemak dan menurunkan kadar trigliserida.¹⁵

Berdasarkan penelitian struktur kimia kandungan alkaloid daun jati Belanda memiliki kemiripan dengan Orlistat, yaitu obat sintesis penurun berat badan yang bekerja menekan nafsu makan dengan cara menghambat kinerja enzim lipase sehingga absorpsi lemak dalam tubuh berkurang.¹⁶ Selain itu kandungan musilago juga dapat menghambat proses absorpsi usus melalui pengendapan protein yang ada dalam permukaan usus.^{16,17} Senyawa tanin pada daun jati belanda juga bekerja sebagai

astringen yang mengurangi penyerapan makanan selain juga dapat menghambat kerja enzim lipase.¹⁸

Penelitian Retno (2012) menyebutkan bahwa kemuning merupakan simplisia terbanyak kedua yang digunakan dalam sediaan kapsul oleh dokter yang berpraktik menggunakan jamu pada pasien hiperkolesterolemia.¹⁹ Kandungan senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang terdapat pada kemuning dapat menurunkan kolesterol dan berat badan pada tikus yang diberi propitiourasil 0,01% dan pakan tinggi lemak. Flavonoid dan tanin dalam kemuning dapat menghambat penyerapan lemak dan kolesterol dalam usus.²⁰

Akar kelembak (*Rheum officinale*) dalam beberapa studi digunakan sebagai pencahar untuk mengobati konstipasi selain juga dapat digunakan untuk mengatasi gangguan gastrointestinal.²¹ Sedangkan daun tempuyung berperan sebagai diuretik yang dapat membantu mengurangi retensi cairan pada penderita obesitas.²²

Saat ini obat sintetik orlistat aman digunakan dalam jangka waktu yang lama oleh pasien obesitas. Keuntungan dari tanaman herbal adalah adanya efek samping yang minimal.²³

Hasil penelitian juga menunjukkan kesetaraan penurunan rerata BB dan IMT pada akhir penelitian (H-56). Sediaan rebusan dibuat dengan cara merebus ramuan jamu dalam air mendidih selama 15 menit, sedangkan sediaan seduhan dibuat dengan cara menyiram serbuk jamu dengan air mendidih kemudian didinginkan dan diminum. Kedua bentuk sediaan ini cukup populer digunakan masyarakat Indonesia dalam menyiapkan jamu. Proses pelepasan zat aktif pada sediaan rebusan berlangsung kurang lebih selama 15 menit / selama perebusan. Pada sediaan seduhan, proses pelarutan zat aktif terjadi lebih singkat yaitu saat serbuk disiram air mendidih sampai air menjadi dingin.²⁴ Pada bentuk seduhan walaupun proses pelarutan zat aktif lebih singkat namun karena permukaan serbuk lebih luas daripada bentuk rebusan sehingga proses pelarutan menjadi lebih

cepat.²⁵

Rerata IMT subjek setelah 56 hari pemberian ramuan jamu baik yang berbentuk seduhan maupun rebusan masih berada dalam kategori obese ($>25 \text{ kg/m}^2$). Penelitian Ardiyanto dkk terhadap rebusan ramuan jamu yang sama dibandingkan orlistat selama 56 hari juga menunjukkan hasil IMT dalam kategori obese, yaitu $27,28 \pm 1,50 \text{ kg/m}^2$ pada kelompok minum rebusan ramuan jamu dan $27,64 \pm 1,98 \text{ kg/m}^2$ pada kelompok minum Orlistat.²³ Keterbatasan pada penelitian ini adalah belum dilakukan pencatatan, konseling maupun intervensi terhadap jumlah asupan makanan serta aktivitas fisik dari subjek. Selain itu subjek sebagian besar wanita, sedangkan jumlah subjek laki-laki sedikit.

KESIMPULAN

Ramuan jamu untuk pengobatan obesitas yang terdiri dari daun jati belanda, kemuning, akar kelembak dan daun tempuyung berbentuk seduhan berkhasiat menurunkan BB dan IMT setara dengan bentuk rebusan.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut dengan jumlah subjek laki-laki yang lebih representatif dan mengenai zat aktif yang berperan pada kedua sediaan ramuan jamu untuk obesitas tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Kepala B2P2TO2T beserta semua staf, rekan-rekan di RRJ Hortus Medicus dan para subjek yang telah bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini peneliti di B2P2TO2T atas kerja sama dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Pantalone KM, Hobbs TM, Chagin KM, Kong SX, Wells BJ, Kattan MW, et al. Prevalence and recognition of obesity and its associated comorbidities: cross-sectional analysis of electronic health

- record data from a large US integrated health system. *BMJ*. 2017;
2. Mitchell NS, Catenacci VA, Wyatt HR, Hill JO. Obesity: Overview of an Epidemic. *PSC* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;34(4):717–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psc.2011.08.005>
 3. Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of Obesity and Trends in the Distribution of Body Mass Index Among US Adults , 1999-2010. *JAMA*. 2012;307(5):491–7.
 4. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). Laporan Nasional. 2013.
 5. Kesehatan K. HASIL UTAMA RISKESDAS. 2018.
 6. Husnah. Tatalaksana obesitas. *J Kedokt Syiah Kuala*. 2012;12(2):99–104.
 7. Triyono A. Laporan akhir penelitian observasi klinik ramuan jamu sebagai penurun berat badan. 2011.
 8. Lwanga S, Lemeshow S. Sample size determination in health studies; a practical manual. Genewa: WHO; 1991.
 9. BPOM. Peraturan Kepala BPOM RI No.12 Tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Jakarta; 2014.
 10. Kamso S. Dislipidemia dan obesitas sentral pada lanjut usia di kota Padang. *J Kesehat Masy Nas*. 2007;2(2):73–7.
 11. Babu R, Sreekanth T. Implementation of the Asia-Pacific guidelines of obesity classification on the APACHE-O scoring system and its role in the prediction of outcomes of acute pancreatitis: a study from India. *Dig Dis Sci*. 2014;1316–21.
 12. Lim JU, Lee JH, Kim JS, Hwang Y Il, Kim T, Yong S, et al. Comparison of World Health Organization and Asia-Pacific body mass index classifications in COPD patients. *Int J COPD*. 2017;12:2465–75.
 13. Hasani-ranjbar S, Jouyandeh Z, Abdollahi M. A systematic review of anti-obesity medicinal plants - an update. *Jounal Diabetes Metab Disord*. 2013;
 14. Andini A, Indra EN. Perbedaan pengaruh frekuensi latihan senam aerobik terhadap penurunan persentase lemak tubuh dan berat badan pada members wanita. *Medikora*. 2016;VX(1):39–52.
 15. Andriani Y. Pengaruh ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk .) terhadap bobot badan kelinci yang diberi pakan berlemak. *J Gradien*. 2005;1(2):74–6.
 16. Widyati RM. Pengaruh pemberian ekstrak daun jati belanda (*Gauzuma ulmifolia* Lamk) terhadap berat badan, berat testis, dan jumlah sperma mencit (*Mus musculus* L) galur Swiss Webster. Universitas Pendidikan Indonesia; 2012.
 17. Hidayat M, Soeng SSP, Patricia TH, Yonathan K. Aktivitas antioksidan dan antitrigliserida ekstrak tunggal kedelai, daun jati belanda serta kombinasinya. *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fis*. 2014;16(2):89–94.
 18. Mills S, Bone K. Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine. Edinburgh; New York; 2000.
 19. Gitawati R, Widowati L, Suharyanto F. Penggunaan jamu pada pasien hiperlipidemia berdasarkan data rekam medik di beberapa fasilitas pelayanan kesehatan di Indonesia. *J Kefarmasian Indones*. 2015;5(1):41–8.
 20. Rosnaeni, Tanudjaja F, Hartono GP. Efek ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya Paniculata* (L.) Jack) terhadap kadar kolesterol total darah tikus Wistar jantan. Universitas Kristen Maranatha; 2014.
 21. Maqbool F, Singh S, Kaloo ZA, Jan M. Medicinal importance of genus *Atropa* Royle - a review *Atropa acuminata* Royle. *Int J Adv Res*. 2014;2(2):48–54.
 22. Seal T. Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India. *J Appl Pharm Sci*. 2016;6(March):157–66.
 23. Ardiyanto D, Triyono A, Novianto F, Mana TA. Pengaruh jamu obesitas terhadap indeks massa tubuh , lingkar perut, dan lingkar lengan dibandingkan dengan orlistat dan evaluasi keamanannya. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 2018;46(3):177–82.
 24. Badan POM. Acuan sediaan herbal volume kelima. Jakarta; 2010.
 25. Azwanida Nn A. Medicinal & aromatic plants a review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*. 2015;4(3):3–8.

Aktivitas Antioksidan serta Penghambatan HMG CoA dan Lipase dari Kombinasi Ekstrak Daun Binahong-Rimpang Temulawak

Antioxidant Activity along with Inhibition of HMG CoA Reductase and Lipase from *Anredera cordifolia* Leaf - *Curcuma xanthorrhiza* Rhizome Combination

Nanang Yunarto*, Nurul Aini, Indah Sulistyowati, Intan Sari Oktoberia
Arifayu Addiena Kurniatri

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Jakarta, Indonesia
*E-mail: nayunandesba@yahoo.com

Diterima : 24 Juni 2019

Direvisi : 24 Juli 2019

Disetujui : 25 Juli 2019

Abstrak

Prevalensi dislipidemia di Indonesia terus meningkat. Binahong dan temulawak merupakan tanaman yang secara empiris di masyarakat digunakan untuk mengatasi gangguan dislipidemia. Flavonoid sebagai senyawa utama dalam binahong dan kurkumin dalam temulawak berpotensi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme secara *in vitro* dari binahong dan temulawak dalam menurunkan kolesterol dihubungkan dengan aktivitas antioksidannya. Pengujian dilakukan terhadap kombinasi ekstrak etanol daun binahong dengan rimpang temulawak (1:1) dan bentuk tunggalnya. Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, yaitu seri kadar sampel dan pembandingan asam askorbat diberikan DPPH. Aktivitas penghambatan enzim HMG CoA dan lipase dilakukan secara enzimatis menggunakan ELISA dengan pembandingan simvastatin. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} aktivitas antioksidan tertinggi adalah pada sampel ekstrak temulawak sebesar $16,21 \pm 1,74 \mu\text{g/mL}$, namun masih kurang potensial dibandingkan asam askorbat $7,63 \pm 0,85 \mu\text{g/mL}$. Potensi penghambatan enzim HMG CoA dan lipase paling tinggi pada ekstrak temulawak dengan nilai IC_{50} $8,35 \pm 0,02$ dan $22,35 \pm 1,26 \mu\text{g/mL}$. Kombinasi ekstrak binahong-temulawak 1:1 lebih baik dari ekstrak binahong namun lebih rendah dari ekstrak temulawak pada aktivitas antioksidan maupun penghambatan enzim HMG CoA reduktase dan lipase. Dari hasil tersebut menunjukkan suatu korelasi bahwa semakin tinggi aktivitas antioksidan, maka potensi penghambatan enzim HMG CoA reduktase dan lipase semakin tinggi.

Kata Kunci: Binahong; Temulawak; Antioksidan; HMG CoA reduktase; Lipase

Abstract

The prevalence of dyslipidemia in Indonesia continues to increase. *Anredera cordifolia* and *Curcuma xanthorrhiza* are empirically used in the community to overcome dyslipidemia disorders. Flavonoids as the main compounds in *A. cordifolia* and curcumin in *C. xanthorrhiza* have potential as antioxidant activity. This study aims to determine the *in vitro* mechanism of *A. cordifolia* and *C. xanthorrhiza* to reduce cholesterol associated with antioxidant activity. The testing was carried out on a combination of ethanol extracts of *A. cordifolia* leaves with *C. xanthorrhiza* rhizomes (1:1) and their single extract. The antioxidant activity test was conducted using DPPH method by making serial dilution of samples and ascorbic acid with adding DPPH. The inhibitory activity of HMG CoA and lipase enzymes was carried out enzymatically using ELISA as well as simvastatin as the comparison. The results showed that the highest antioxidant activity is in *C. xanthorrhiza* extract samples IC_{50} $16.21 \pm 1.74 \mu\text{g/mL}$, but was less potential compared to ascorbic acid IC_{50} $7.63 \pm 0.85 \mu\text{g/mL}$. The most potential inhibition of HMG CoA and lipase is in *C. xanthorrhiza* samples IC_{50} 8.35 ± 0.02 and $22.35 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$. The combination of *A. cordifolia* and *C. xanthorrhiza* (1: 1) is better than *A. cordifolia* extract but lower than *C. xanthorrhiza* extract in antioxidant activity as well as the inhibition of HMG CoA reductase and lipase. The result showed a correlation that the higher antioxidant activity, the higher inhibitory of HMG CoA reductase and lipase respectively.

Keywords: *Anredera cordifolia*; *Curcuma xanthorrhiza*; Antioxidant; HMG CoA reductase; Lipase

PENDAHULUAN

Badan kesehatan dunia (WHO) menyatakan bahwa penyakit jantung koroner (PJK) dan stroke menduduki urutan penyakit penyebab kematian paling besar di dunia.¹ Kadar kolesterol darah yang tinggi merupakan salah satu faktor risiko utama terjadinya PJK dan stroke disamping hipertensi, merokok abnormalitas gula darah, dan kurangnya aktifitas fisik.²

Kolesterol jenuh dalam darah memicu terjadinya proses aterosklerosis yang sudah dapat diawali pada masa kanak-kanak dan manifestasi penyakit tersebut secara klinis pada usia menengah dan lanjut. Proses aterosklerosis ini terakumulasi dan menahun yang diperburuk dengan pola hidup yang tidak sehat. Dampaknya baru terlihat dikala peranjakan dari masa remaja ke masa dewasa. Umumnya pada masa ini bisa diperkirakan sebagai masa kepastian penyakit ini terjadi.^{3,4}

Oksidasi asam lemak dapat mempermudah kolesterol dalam melewati dinding arteri. Adanya antioksidan akan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas.⁵ Oksidasi asam lemak berlebihan akan meningkatkan jumlah kolesterol dalam darah. Salah satu mekanisme dalam menghambat pembentukan kolesterol yaitu dengan penghambatan sintesis kolesterol melalui enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzym A* (HMG CoA) reduktase, dan penghambatan absorpsi kolesterol yang diperantarai enzim lipase.⁶ Peningkatan aktivitas dari enzim lipase mempengaruhi peningkatan lipolisis trigliserida dalam jaringan adipose.⁷

Penelitian Rizki dkk menunjukkan ekstrak air *Curcuma xanthorrhiza* (temulawak) dapat menghambat peroksidase lipid. Kurkumin dalam temulawak mempunyai efek sebagai antioksidan. Dalam kaitanya dengan penghambatan pembentukan kolesterol, kurkumin dapat meningkatkan enzim atau

katalisator perubahan kolesterol menjadi asam empedu sehingga meningkatkan sekresi empedu. Peningkatan sekresi empedu dapat meningkatkan ekskresi kolesterol. Senyawa kurkumin telah terbukti memberikan pengaruh pada penurunan kadar kolesterol secara bermakna.⁸

Binahong (*Anredera cordifolia*) telah diteliti memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa flavonoid dalam binahong berfungsi sebagai antioksidan yang mencegah oksidasi asam lemak dan LDL dalam darah.⁹ Pemberian ekstrak etanol daun binahong pada hewan yang diinduksi lemak tinggi, mampu menurunkan absorpsi kolesterol dalam darah dan meningkatkan pengubahan kolesterol menjadi asam empedu sehingga akan meningkatkan eliminasi kolesterol sehingga kadar kolesterol dalam darah menurun.¹⁰ Penelitian Lestari dkk, ekstrak etanol daun binahong dengan dosis 100 dan 200 mg/kg mampu menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam darah tikus.¹⁰ Pemberian ekstrak etanol dan fraksi rimpang temulawak dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida pada tikus.¹¹

Beberapa uji pre klinik efek binahong dan temulawak pada hewan coba menunjukkan masing-masing tanaman berpotensi sebagai obat dislipidemia. Untuk menguatkan bukti ilmiah, maka diperlukan penelitian yang bertujuan mengetahui mekanisme aksi tanaman tersebut dalam menurunkan kolesterol dan trigliserida melalui uji penghambatan enzim HMG CoA dan lipase baik secara tunggal maupun kombinasinya. Selanjutnya kita akan mengetahui hubungan dari aktivitas antioksidan dengan aktivitas enzim HMG CoA dan lipase secara in vitro.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan, yaitu vortex, chamber, maserator, spektrofotometer UV-VIS (Thermo Scientific), rotary evaporator

(Buchi), timbangan analitik, mikropipet, microplate reader MR 9600.

Bahan yang digunakan, yaitu daun binahong dan rimpang temulawak dari Kampung Jamu Cikarang. metanol pa, etanol pa, akuades, DPPH (2,2 difenilpikrilhidrazil) (Sigma aldrich), orlistat (Sigma Aldrich), kit lipase K722 (Biovision), kit *HMG CoA(3-hydroxy 3-methylglutaryl coenzyme A) reductase activity/inhibitor K588-100* (Biovision), asam askorbat (Sigma Aldrich), Simvastatin (Sigma Aldrich), well plate 96.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol daun binahong

Sebanyak 500 g simplisia daun binahong dimaserasi dengan etanol 70% selama 2x24 jam. Maserat yang diperoleh disaring, kemudian residu kembali dimaserasi kembali dengan etanol 70% dengan jumlah yang sama dan diulang perlakuan tersebut sampai tiga kali. Selanjutnya, maserat diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C hingga pekat. Pengeringan dilakukan menggunakan *waterbath* dan untuk mengoptimalkan proses pengeringan dilanjutkan menggunakan menggunakan oven pada suhu 50°C. Ekstrak kering yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam desikator.¹²

Pembuatan ekstrak etanol rimpang temulawak

Ekstraksi temulawak dilakukan secara maserasi. Sebanyak 500 g serbuk kering rimpang temulawak dimaserasi selama 2x24 jam menggunakan 5 L etanol 70%. Maserat yang diperoleh disaring, kemudian residu kembali dimaserasi kembali dengan etanol 70% dengan jumlah yang sama dan diulang perlakuan tersebut sampai tiga kali. Selanjutnya, maserat diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C hingga pekat. Pengeringan dilakukan menggunakan *waterbath* dan untuk mengoptimalkan proses pengeringan

dilanjutkan menggunakan menggunakan oven pada suhu 50°C. Ekstrak kering yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam desikator.¹³

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH. Konsentrasi 3 larutan uji (ekstrak binahong, ekstrak temulawak, kombinasi ekstrak binahong dan temulawak 1:1) sebesar 100 µg/mL untuk skrining awal dan 5, 10, 25, 50, dan 100 µg/mL. Perbandingan komposisi 1:1 digunakan untuk melihat efektivitas campuran ekstrak dengan perbandingan yang sama jika dibandingkan dalam bentuk tunggalnya. Asam askorbat (vitamin C) sebagai baku pembanding sebesar 0,5; 1; 2; 4; dan 8 µg/mL, serta DPPH kontrol 0,4 mM. Seluruh sampel larutan uji, kontrol, dan asam askorbat (vitamin C) diinkubasi pada suhu 37°C. Selanjutnya dipipet ke dalam kuvet spektrofotometer dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kontrol blanko dibuat dari etanol dan pembanding yang digunakan adalah asam askorbat. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 515 nm. Aktivitas antioksidan didapatkan dengan menggunakan persamaan 1 dan nilai IC₅₀ yang merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50% diperoleh dengan cara dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan % aktivitas antioksidan (sumbu y).¹⁴

$$\% \text{ Penghambatan} = (A-B)/A \times 100 \% \dots (1)$$

Keterangan: A = serapan blanko

B = serapan bahan uji

Pengukuran inhibisi enzim HMG CoA reduktase

Pembuatan kontrol standar, dibuat seri kadar 1, 2, 3, 4, dan 5 µl dari HMG-CoA reduktase kemudian ditambahkan 2 µl inhibitor ke dalam sumuran. Setiap sampel ekstrak (50 µg) dicampur dengan

campuran reaksi yang mengandung *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (400 µM), substrat HMG-CoA (400 µM), dan buffer kalium fosfat (100 mM, pH 7.4) mengandung kalium klorida (120 mM), asam etilendiamin-tetraasetat (1 mM), dan ditiotritol (5 mM), diikuti oleh penambahan HMG-CoA reduktase (12 µL). Reaksi diinkubasi pada suhu 37°C, dan absorbansi diukur pada 340 nm setelah 60 menit. Simvastatin digunakan sebagai kontrol positif, dan akuabidestilat sebagai kontrol negatif.^{15,16}

Persentase penghambatan dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\Delta \text{ absorbansi kontrol} - \Delta \text{ absorbansi sampel}}{\Delta \text{ absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Pengukurans inhibisi pada enzim lipase

Sepuluh mikroliter gliserol standar ditambahkan ke dalam 990 µl buffer lipase substrat untuk menghasilkan 1 mM gliserol, diaduk hingga rata. Selanjutnya dibuat seri kadar standar 2, 4, 6, 8, 10 µl ke dalam sumuran. Setiap sampel ekstrak (50 µg) dicampur dengan campuran reaksi yang mengandung OxiRed Probe (2 µL), *dimethyl-sulfoxide* (DMSO), *enzyme mix* (2 µL), lipase substrate (3 µL), gliserol standar (100mM), diikuti oleh penambahan *assay buffer* (93 µL). Reaksi diinkubasi pada suhu 37°C, dan absorbansi diukur pada 570 nm setelah 60-90 menit. Simvastatin digunakan sebagai kontrol positif, dan akuabidestilat sebagai kontrol negatif.^{17,18}

Persentase penghambatan dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\Delta \text{ absorbansi kontrol} - \Delta \text{ absorbansi sampel}}{\Delta \text{ absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antioksidan ekstrak binahong, temulawak dan kombinasinya dengan metode DPPH

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak etanol daun binahong, ekstrak etanol temulawak, dan

kombinasi keduanya memiliki aktivitas antioksidan konsentrasi yang dapat menghambat 50% (IC₅₀) terbentuknya radikal bebas. Pada penelitian ini menggunakan etanol sebagai pelarut, karena dari beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol (polar) dari daun binahong mempunyai potensi antioksidan lebih tinggi jika dibandingkan dengan pelarut etil asetat (semipolar) dan petroleum eter (non polar).¹⁹ Pada pengujian aktivitas antioksidan IC₅₀ pada sampel masing-masing menunjukkan hasil EB sebesar 28.94±3,12 µg/mL, ET 16,21±1,74 µg/mL dan kombinasi keduanya 18,36±1,28 µg/mL, sedangkan IC₅₀ asam askorbat sebesar 7,63± 0,85µg/mL (Tabel 1). Kekuatan aktivitas antioksidan dapat dikelompokkan ke dalam kategori sangat aktif jika memiliki IC₅₀<10 µg/mL dan IC₅₀ 10-100 µg/mL, serta tidak aktif jika memiliki IC₅₀>100 µg/mL.²⁰ Aktivitas antioksidan ketiga sampel uji dalam kelompok aktif, namun masih di bawah kontrol positif yaitu asam askorbat.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan sampel dengan kontrol positif asam askorbat

Nama Sampel	IC ₅₀ ± SD (µg/mL)
Ekstrak binahong	28.94±3,12
Ekstrak temulawak	16,21±1,74
Kombinasi ekstrak (1:1)	18,36±1,28
Asam Askorbat	7,63±0,85

Mekanisme kerja dalam metode DPPH yaitu di mana senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari warna ungu ke kuning yang kemudian diukur pada panjang gelombang 515 nm. Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH tersebut dapat menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara atom hidrogen yang dilepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk

senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning.²⁰

Aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun binahong dikarenakan adanya kandungan flavonoid terutama kuersetin. Struktur yang memungkinkan aktivitas penangkapan radikal dari flavonoid adalah adanya 3,4-dihidroksil misalnya dihidroksil (struktur katekol) pada cincin B, berperan sebagai donor elektron dan menjadi target radikal. Struktur 3-OH dari cincin C juga menguntungkan untuk aktivitas antioksidan flavonoid. Konjugasi ikatan rangkap pada C2-C3 dengan gugus 4-keto, berperan untuk delokalisasi elektron dari cincin B sehingga meningkatkan kapasitas penangkapan radikal. Adanya gugus 3-OH dan 5-OH dalam kombinasi dengan fungsi 4-karbonil dan ikatan rangkap C2-C3 menaikkan aktivitas radikal. Dengan tidak adanya struktur o-dihidroksi pada cincin B, substituen hidroksil pada cincin A dapat dikompensasi dan menaikkan kemampuan aktivitas antiradikal dari flavonoid.²¹

Kurkumin merupakan kandungan senyawa aktif ekstrak temulawak yang mempunyai efek sebagai antioksidan, Mekanisme antioksidan pada kurkumin dihubungkan dengan adanya atom H dari gugus fenolik. Aksi kurkumin sebagai penangkap radikal yaitu dapat menjaga integritas membran sel yang diakibatkan peristiwa degradasi oksidatif karena adanya radikal oksigen dan radikal-radikal reaktif lainnya.²²

Penghambatan ekstrak binahong, temulawak dan kombinasinya pada enzim HMG CoA reduktase

Adanya kolesterol total dalam darah menentukan jumlah kolesterol yang terdapat di dalam semua partikel lipoprotein tubuh. Pada kondisi penyakit kardiovaskuler, kolesterol total dan LDL adalah suatu parameter untuk menentukan risiko, bukan sebagai uji diagnostik. Dengan adanya penambahan kolesterol eksogen ke dalam tubuh akan menyebabkan kadar kolesterol total plasma

dapat meningkat. Kolesterol total plasma terdiri dari VLDL, LDL, HDL, trigliserida, dan kolesterol bebas. Mekanisme peningkatan kadar kolesterol total yaitu akibat peningkatan kadar asam lemak bebas dalam plasma yang dapat meningkatkan sekresi LDL oleh hati, yang meliputi trigliserida dan kolesterol tambahan ke dalam sirkulasi darah.²³

Tabel 2 menunjukkan nilai IC₅₀ sampel pada enzim HMG CoA reduktase. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin besar potensi penghambatan aktivitas enzim HMG CoA reduktase.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ sampel dan pembanding pada enzim HMG CoA reduktase

Nama Sampel	IC₅₀± SD (µg/mL)
Ekstrak binahong	12,29 ± 0,07
Ekstrak temulawak	8,35 ± 0,02
Kombinasi ekstrak (1:1)	9,96 ± 0,03
Simvastatin	5,26 ± 0,02

Potensi paling besar pada ekstrak temulawak (8,35 ± 0,02 µg/mL) dibandingkan dengan ekstrak binahong (12,29 ± 0,07 µg/mL), dan kombinasi keduanya (9,96 ± 0,03 µg/mL), namun masih lebih rendah dari nilai IC₅₀ pembanding simvastatin (5,26 ± 0,02 µg/mL).

Flavonoid dalam binahong dan kurkumin dalam temulawak memiliki aktivitas menghambat kerja HMG-CoA reduktase yang mengakibatkan pembentukan mevalonat dari HMG-CoA berkurang. Kandungan flavonoid dalam binahong yang dominan adalah vitexin. Flavonoid dapat mengikat kolesterol dalam lumen duodenum dan yeyenum sehingga asupan kolesterol eksogen menjadi rendah.^{23,24}

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kurkumin memiliki efek antihiperkolesterolemia pada tikus model yang diinduksi Triton WR1339. Triton WR1339 (Tyloxapol) banyak digunakan

untuk menginduksi hiperkolesterolemia pada model hewan. Tercatat bahwa efek hipokolesterolemia dari kurkumin dikaitkan dengan efek stimulannya terhadap enzim HMG CoA reduktase hati, suatu enzim yang mengatur katabolisme kolesterol. Mekanisme ini diasumsikan melalui peningkatan ekskresi kolesterol dalam kantong empedu bersama dengan penurunan saturasi kolesterol empedu dan peningkatan ekskresi lemak dalam tinja. Oleh karena itu, secara signifikan menghambat oksidasi LDL dan mengerahkan potensi hipokolesterolemia pada hewan uji.²⁵

Pembandingan dalam studi ini adalah simvastatin obat lini pertama untuk gangguan dyslipidemia. Simvastatin efektif dalam menghambat aktivitas enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA reduktase (HMG-CoA reduktase) dan memberikan hasil yang signifikan terhadap pengobatan hiperlipidemia. Simvastatin bekerja dengan cara menghambat sintesis kolesterol. Akibat penurunan sintesis kolesterol, maka *Sterol Regulatory Element-Binding Proteins (SREBP)* yang terdapat pada membran dipecah oleh protease lalu diangkut ke nukleus.²⁶

Penghambatan ekstrak binahong, temulawak dan kombinasinya pada enzim lipase

Lipase merupakan enzim yang mampu mengkatalisasi pembentukan ikatan ester (esterifikasi) dan pertukaran ikatan ester pada media bukan air.²⁶ Hasil pengukuran penghambatan ekstrak binahong, temulawak dan kombinasinya pada enzim lipase menunjukkan bahwa semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin besar potensi penghambatan aktivitas enzim lipase. Tabel 3 menunjukkan nilai IC₅₀ sampel pada enzim lipase tertinggi pada ekstrak temulawak (22,35±1,26 µg/mL) dibandingkan dengan kombinasi keduanya (29,93±1,33 µg/mL) dan ekstrak binahong (22,35±1,26 µg/mL), namun masih lebih rendah dibanding dengan nilai IC₅₀ senyawa pembandingan simvastatin

(24,26±1,02 µg/mL). Mekanisme kerja simvastatin adalah mengurangi absorpsi lemak. Dari hasil tersebut sampel uji baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi memiliki potensi yang baik dalam menghambat aktivitas enzim lipase, sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida.

Tabel 3. Nilai IC₅₀ sampel dan pembandingan pada enzim HMG CoA reduktase

Nama Sampel	IC₅₀± SD (µg/mL)
Ekstrak binahong	35,46±1,52
Ekstrak temulawak	22,35±1,26
Kombinasi ekstrak (1:1)	29,93±1,33
Simvastatin	24,26±1,02

Flavonoid memiliki aktivitas dalam menghambat kerja dari enzim lipase. Didalam tubuh minyak dapat terhidrolisis menjadi asam lemak jenuh oleh enzim lipase. Selanjutnya asam lemak melalui oksidasi beta dapat diubah menjadi asetil KoA yang merupakan prekursor dari kolesterol. Adanya flavonoid dalam binahong akan menekan kenaikan jumlah prekursor menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Peningkatan jumlah radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan asam nukleat, protein dan membran lipid sehingga dapat menimbulkan kanker dan kerusakan hati. Hati memegang peranan penting dalam pengangkutan dan metabolisme lemak, diantaranya produksi getah empedu untuk ekskresi kolesterol, mempunyai sistem enzim yang dapat mensintesis dan mengoksidasi asam lemak, mengubah asam lemak menjadi asam empedu dan berperan dalam metabolisme lipoprotein. Kerusakan dan efek toksik pada hati dapat mengganggu metabolisme dan ekskresi kolesterol dari dalam tubuh.²⁷

Kurkumin dalam temulawak merupakan polifenol alami yang diselidiki secara ekstensif memiliki aktivitas

antioksidan dan hipolipidemik. Potensi temulawak dalam menghambat kerja lipase melalui mekanisme kompetitor pada ligan enzim. Penelitian sebelumnya juga menguatkan kurkumin paling efektif dalam menurunkan trigliserida (TG) melalui penghambatan kerja enzim lipase, Secara keseluruhan, kurkumin mempengaruhi mediator yang sama dari perubahan lipid plasma seperti yang dilakukan statin. Hampir semua jalur transportasi kolesterol yang berlangsung dalam tubuh dipengaruhi oleh senyawa-senyawa ini. Jalur transportasi yang dilalui termasuk melalui penyerapan kolesterol diet oleh gastrointestinal, perpindahan kolesterol plasma hepatoseluler, mediator transportasi kolesterol balik, dan perpindahan kolesterol dari jaringan perifer. Selain itu, potensi *reactive oxygen species* (ROS) dari kurkumin membatasi risiko peroksidasi lipid yang memicu respons peradangan yang menyebabkan penyakit kardiovaskular (CVD) dan aterosklerosis.²⁸

KESIMPULAN

Ekstrak rimpang temulawak mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH dan mempunyai aktivitas penghambatan terhadap enzim HMG CoA reduktase dan lipase. Kombinasi rimpang ekstrak temulawak dan ekstrak daun binahong 1:1 lebih baik dari ekstrak daun binahong tunggal pada aktivitas antioksidan maupun penghambatan enzim HMG CoA reduktase dan lipase. Pada penelitian ini menunjukkan hubungan dengan semakin tinggi aktivitas antioksidan, maka potensi penghambatan enzim HMG CoA reduktase dan lipase semakin tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Farmasi Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan dan Program Magister Herbal Universitas

Indonesia atas bantuannya selama proses penelitian.

DAFTAR RUJUKAN

1. World Health Organization. A wealth of information on global public health. Geneva; 2014.
2. Perkeni. Panduan pengelolaan dyslipidemia di Indonesia. Jakarta; 2015.
3. Jellinger P, Smith D, Mehta A, Ganda O, Handelsman Y, Rodbard H, et.al. American Association of Clinical Endocrinologists' guidelines for management of dyslipidemia and prevention of atherosclerosis. *Endocrine practice*. 2012;18(Supplement 1):1-78.
4. Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell*. 2011;145(3):341-55.
5. Selawa W, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [*Anredera cordifolia* (ten.) steenis.]. *Pharmacon*. 2013;2(1):18-22.
6. Yunarto N, Aini N. Effect of purified gambir leaves extract to prevent atherosclerosis in rats. *Health Science Journal of Indonesia*. 2015;6(2):105-10.
7. Putri SR, Anggraini DI. Obesitas sebagai faktor resiko peningkatan kadar trigliserida. *Jurnal Majority*. 2015; 4(9): 78-82.
8. Rizki AU, Cholid C, Amalia M. (2017). Perbedaan efektivitas ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) pada penurunan kadar kolesterol total tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 2017;10(1):54-69.
9. Parwati NKF, Napitupulu M, Diah AW. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) dengan 1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Akademika Kimia*. 2014;3(4): 206-13
10. Anggraini DI, Ali MM. Uji aktivitas antikolesterol ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten)

- Steenis) secara in vitro. Jurnal Ilmiah Kesehatan. 2017;9(1):1-6
11. Lestari D, Sukandar Y, Fidrianny I. Anredera cordifolia leaves extract as anti-hyperlipidemia and endothelial fat content reducer in male Wistar rat. Int. J. Pharm. Clin. Res, 2015;7(6):435-39.
 12. Eriadi A, Arifin H, Rizal Z, Barmitoni B. Pengaruh ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap penyembuhan luka sayat pada tikus putih jantan. Jurnal Farmasi Higea. 2017;7(2):162-72.
 13. Nugraheni A, Yunarto N, Sulistyanningrum N. Optimasi formula mikroenkapsulasi ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan penyalut berbasis air. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2015;5(2):98-105.
 14. Yunarto N, Rossyid HM, Lienggonogoro LA. Effect of ethanolic leaves extract of *Peperomia pellucida* (L) Kunth as antimalarial and antioxidant. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2018 Oct 17;28(2):123-30.
 15. Baskaran G, Salvamani S, Ahmad SA, Shaharuddin NA, Pattiram PD, Shukor MY. HMG-CoA reductase inhibitory activity and phytochemical investigation of *Basella alba* leaf extract as a treatment for hypercholesterolemia. *Drug Des Devel Ther.* 2015 Jan 14;9:509-17. doi: 10.2147/DDDT.S75056.
 16. BioVision lipase assay. <http://www.biovision.com/manuals/K588.pdf>
 17. Cai S, Wang O, Wang M, He J, Wang Y, Zhang D, Zhou F, Ji B. In vitro inhibitory effect on pancreatic lipase activity of subfractions from ethanol extracts of fermented oats (*Avena sativa* L.) and synergistic effect of three phenolic acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2012 Jul 13;60(29):7245-51.
 18. BioVision lipase assay. <http://www.biovision.com/manuals/K722-100.pdf>
 19. Octavia DR. Uji aktivitas penangkap radikal ekstrak petroleum eter, etil asetat dan etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Tesis. Universitas Muhammadiyah
 20. Surakarta, Indonesia, 2010.
 21. Wijaya DP, Paendong JE, Abidjulu J. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari daun nasi (*Phrynium capitatum*) dengan metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). Jurnal MIPA. 2014; 3(1):11-5.
 22. Brunetti C, Di Ferdinando M, Fini A, Pollastri S, Tattini M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. Int. J. Mol. Sci. 2013;14:3540-55.
 23. Kawiji K, Atmaka W, Otaviana PR. Kajian kadar kurkuminoid, total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) pada berbagai teknik pengeringan dan proporsi pelarutan. Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. 2011;4(1):32-40.
 24. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. Harper's illustrated biochemistry. New York: The Mc Graw-Hill Companies; 2006.
 25. Mulia K, Muhammad F, Krisanti E. Extraction of vitexin from binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves using betaine-1, 4 butanediol natural deep eutectic solvent (NADES). AIP Conference Proceedings. 2017;Vol. 1823: No. 1, p. 020018.
 26. Mauren FM, Yanti BWL. Efficacy of oral curcuminoid fraction from curcuma xanthorrhiza and curcuminoid cider in high-cholesterol fed rats. Pharmacognosy research. 2016;8(3):153.
 27. Suyatna FD. Hipolipidemik. dalam Gunawan R. Setiabudy, Nafrialdi, Elizabeth. Farmakologi dan Terapi Edisi 6. Jakarta Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2017.
 28. Rahim ATM, Takahashi Y, Yamaki K. Mode of pancreatic lipase inhibition activity in vitro by some flavonoids and non-flavonoid polyphenols. Food Research International. 2015;75:289-94.
 29. Panahi Y, Ahmadi Y, Teymouri M, Johnston TP, Sahebkar A. Curcumin as a potential candidate for treating hyperlipidemia: a review of cellular and metabolic mechanisms. Journal of cellular physiology. 2018; 233(1):141-52.

Aktivitas Antiinflamasi *Crude Extract* Fukoidan dari *Sargassum crassifolium* pada Sel RAW 264.7 yang Diinduksi LPS

Anti-inflammatory Activity of Fucoidan Crude Extract from *Sargassum crassifolium* Against LPS-induced RAW 264.7 Cells

Pangartika Hikariastri^{1*}, Hendig Winarno^{1,2}, Kusmardi³, Dian Ratih Laksmiawati¹, Syamsudin Abdullah¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia

²Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta, Indonesia

³Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

*E-mail: pangar.hikari@gmail.com

Diterima: 23 Maret 2019

Direvisi: 20 Juni 2019

Disetujui: 6 Agustus 2019

Abstrak

Inflamasi merupakan respon tubuh yang mendasari berbagai penyakit kronis. Aktivasi makrofag oleh stimulus inflamasi akan memicu pelepasan berbagai mediator inflamasi, sehingga mediator inflamasi menjadi target pengembangan obat antiinflamasi yang menjanjikan. Penelitian terdahulu menunjukkan aktivitas antiinflamasi fukoidan melalui penghambatan berbagai mediator proinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antiinflamasi *crude extract* fukoidan dari *Sargassum crassifolium* yang dikumpulkan dari perairan Garut dengan melihat pengaruhnya terhadap sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Fukoidan merupakan senyawa polisakarida dengan karakteristik beragam yang tergantung pada spesies asal dan metode ekstraksi yang digunakan. Karakteristik tersebut memengaruhi aktivitas farmakologi fukoidan. *Sargassum crassifolium* yang dikumpulkan dari Garut-Jawa Barat diekstraksi dengan larutan HCl 0,1 M dan diendapkan dengan etanol hingga diperoleh *crude extract* fukoidan. *Crude extract* diujikan pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS untuk mengevaluasi efek terhadap TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 dengan menggunakan metode ELISA. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak uji menurunkan kadar TNF- α pada pemberian dosis 25 dan 50 $\mu\text{g/ml}$, serta menurunkan kadar IL-1 β dan IL-6 pada dosis 25 $\mu\text{g/ml}$. Ekstrak uji dosis 50 $\mu\text{g/ml}$ tidak menurunkan kadar IL-1 β dan IL-6. Penelitian ini membuktikan bahwa *crude extract* fukoidan dari *S. crassifolium* pada dosis 25 $\mu\text{g/ml}$ memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap sel RAW 264.7.

Kata kunci: *Sargassum crassifolium*; *Crude extract* fukoidan; Antiinflamasi; Sel RAW 264.7

Abstract

Inflammation is known as the basic mechanism underlying various chronic diseases. Macrophage activation by inflammatory stimulus induces the release of inflammatory mediators, thus the mediators becoming a promising target of anti-inflammatory drug development. Previous studies indicated that fucoidan has anti-inflammatory activity by inhibiting the release of proinflammatory mediators. The aim of this study is determining anti-inflammatory activity of fucoidan crude extract form *Sargassum crassifolium* Garut waters by observing its effect on proinflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. fucoidan is a polysaccharide substance which has various characteristics, depending on the source and the extraction method which is influencing its bioactivity. *Sargassum crassifolium* collected from Garut-West Java is extracted using diluted HCl 0,1 M and precipitated with ethanol to obtain fucoidan crude extract. The crude extract is tested on LPS-induced RAW 264.7 cells to evaluate its effect on TNF- α , IL-1 β , and IL-6 level using ELISA method. The result showed that fucoidan crude extract decreased the level of TNF- α by the dose of 25 and 50 $\mu\text{g/ml}$, and decreased the level of IL-1 β and IL-6 by the dose of 25 $\mu\text{g/ml}$. The dose of 50 $\mu\text{g/ml}$ failed to inhibit IL-1 β and IL-6 production. This study showed that fucoidan crude extract derived from *S. crassifolium* has anti-inflammatory activity to RAW 264.7 cells by the dose of 25 $\mu\text{g/ml}$.

Keyword: *Sargassum crassifolium*; Fucoidan crude extract; Anti-inflammation; RAW 264.7 cells

PENDAHULUAN

Respon inflamasi merupakan bentuk proteksi tubuh terhadap stimulus tertentu seperti infeksi mikroba dan kerusakan jaringan. Akan tetapi, jika terjadi terus-menerus, respon inflamasi akan merusak jaringan tubuh hingga menyebabkan disfungsi organ terkait (*functio laesa*) dan menimbulkan berbagai penyakit kronis seperti aterosklerosis, diabetes tipe 2, *rheumatoid arthritis*, dan alzheimer.^{1,2}

Makrofag merupakan sel imun bawaan yang berperan penting dalam inflamasi. Aktivasi makrofag oleh stimulus inflamasi akan memicu pelepasan berbagai mediator inflamasi, salah satunya sitokin. Sitokin proinflamasi mempercepat progresi inflamasi melalui peningkatan permeabilitas sel endotel dan rekrutmen leukosit, terutama neutrofil, ke titik inflamasi. Berkembangnya pengetahuan mengenai peran inflamasi dalam patofisiologi berbagai penyakit menjadikan mediator inflamasi sebagai target pengembangan obat.^{1,3,4}

Fukoidan merupakan senyawa polisakarida kompleks yang ditemukan dalam ganggang cokelat. Secara umum, fukoidan tersusun atas *sulfated fucose* sebagai komponen utama dan monomer karbohidrat lainnya dalam jumlah yang lebih sedikit. Fukoidan dari spesies ganggang cokelat yang berbeda akan memiliki komponen penyusun yang berbeda. Selain itu, karakteristik fukoidan juga dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan. Perbedaan karakteristik tersebut menyebabkan keberagaman aktivitas farmakologis fukoidan. Salah satu aktivitas biologi fukoidan yang banyak diteliti adalah antiinflamasi. Secara molekular, fukoidan diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), penghambatan stimulasi sitokin proinflamasi dan molekul adesi sel, serta penghambatan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B.⁵⁻⁸

Penelitian sebelumnya telah membuktikan aktivitas antiinflamasi

fukoidan dari berbagai spesies ganggang cokelat terhadap sitokin proinflamasi, antara lain *S.horneri*, *Laminaria japonica*, *Fucus vesiculosus*, dan *Undaria pinnatifida*. Akan tetapi belum ada yang meneliti aktivitas *S.crassifolium* terhadap sitokin proinflamasi.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antiinflamasi *crude extract* fukoidan dari *S.crassifolium* yang dikumpulkan dari perairan Garut dengan melihat pengaruhnya terhadap sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. *Sargassum crassifolium* diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi asam, hingga diperoleh *crude extract* fukoidan. Penelitian dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel makrofag RAW 264.7 yang distimulasi lipopolisakarida (LPS).

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah Universal *microplate reader* (Bio-Tek® ELX 800™). Bahan yang digunakan antara lain sel RAW 264.7 (ATCC®TIB-71™), RPMI (Sigma), Fetal Bovine Serum (FBS) (Biosera), penisilin-streptomisin (Sigma), trypsin-EDTA (Sigma), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (Bio Basic), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Sigma), Lipopolisakarida (LPS) (Sigma), Mouse TNF- α ELISA *kit*, Mouse IL-1 β ELISA *kit*, Mouse IL-6 ELISA *kit* (Elabscience).

Ekstraksi fukoidan

Crude extract fukoidan diperoleh dari penelitian sebelumnya, melalui ekstraksi ganggang cokelat *S.crassifolium* yang dikumpulkan dari Pantai Cicalobak, Desa Karang Wangi, Garut, Jawa Barat pada bulan Oktober 2017. *Sargassum crassifolium* diekstraksi dengan larutan HCl 0,1 M, kemudian diendapkan dengan etanol. Endapan dikeringkan dengan

freeze-dryer. Crude extract fukoidan yang diperoleh dari penelitian sebelumnya memiliki rendemen sebesar 1,12% dengan kadar fukoidan sebesar 9,44%; kadar sulfat 31,31%; dan kadar total karbohidrat sebesar 21,41%.⁹ Sebelum digunakan, crude extract fukoidan disimpan dilemari pendingin pada suhu 4 °C.

Kultur sel

Sel RAW 264.7 ditumbuhkan dalam RPMI dengan suplementasi 10% FBS dan 1% penisilin-streptomisin. Kultur sel diinkubasi pada suhu 37 °C, kondisi *humidified atmosphere* dan 5% CO₂ hingga sel konfluen, kemudian sel dipanen dengan *trypsin*-EDTA.¹⁰

Uji viabilitas

Uji viabilitas sel dilakukan dengan metode MTT untuk menentukan dosis uji yang tidak bersifat toksik terhadap sel RAW 264. Sebanyak 5 x 10³ sel RAW 264.7 per *well* ditanam dalam *96-well plate* lalu diinkubasi selama 24 jam. Medium dibuang, kemudian sel diinkubasi dengan bahan uji pada variasi konsentrasi 0; 0,49; 0,98; 1,95; 3,91; 7,81; 15,63; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; dan 1000 µg/mL medium selama 24 jam. Medium dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS.

Sebanyak 10 µL larutan MTT 5 mg/mL ditambahkan ke dalam masing-masing *well* dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Kristal formazan yang terbentuk dilarutkan dalam 100 µL DMSO. Serapan diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 570 nm.¹¹ Viabilitas sel dinyatakan dalam persen dengan membandingkan serapan kelompok bahan uji dengan kontrol. Setiap konsentrasi dilakukan replikasi 3 kali dan data yang disajikan adalah rerata persentase viabilitas ± standar deviasi (SD).

Aktivasi inflamasi menggunakan lipopolisakarida

Sel RAW 264.7 ditanam sebanyak 5 x 10⁵ sel per *well* dalam *6-well plate* dan diinkubasi selama 24 jam. Medium

dibuang dan pada sel ditambahkan larutan senyawa uji hingga diperoleh konsentrasi senyawa uji 25 dan 50 µg/mL medium, lalu diinkubasi selama 2 jam. Larutan LPS ditambahkan ke dalam masing-masing *well* hingga diperoleh konsentrasi 1 µg/mL medium, dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Medium diambil dan disentrifugasi pada 2000 x g selama 20 menit pada suhu 2-8 °C. Bagian supernatan diambil dan disimpan pada suhu -80 °C untuk pengukuran kadar TNF-α, IL-1β, dan IL-6.

Pengukuran kadar TNF-α, IL-1β, dan IL-6

Kadar sitokin diukur dengan metode *sandwich* ELISA menggunakan ELISA kit *Elabscience*. Sebanyak 100 µL larutan standar pada berbagai konsentrasi (untuk kurva baku) dan sampel dimasukkan ke dalam masing-masing *well* yang telah dilapisi (*pre-coated*) dengan antibodi spesifik, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 90 menit. Cairan dari setiap *well* dibuang, selanjutnya dengan segera sebanyak 100 µL *biotinylated detection antibody working solution* ditambahkan dan *plate* diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Cairan dari setiap *well* dibuang, kemudian dicuci dengan 350 µL larutan *wash buffer* sebanyak 3 kali. Sebanyak 100 µL HRP *conjugate working solution* ditambahkan ke dalam setiap *well*, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Cairan kembali dibuang, lalu *well* dicuci dengan 350 µL larutan *wash buffer* sebanyak 5 kali. Sebanyak 90 µL reagen substrat ditambahkan ke dalam setiap *well* dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C terlindung cahaya. Selanjutnya, sebanyak 50 µL *stop solution* ditambahkan ke dalam masing-masing *well*. Nilai *optical density* (OD) setiap *well* diukur dengan segera menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.¹²⁻¹⁴ Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan data yang disajikan adalah rerata ± SD.

Analisis statistik

Analisis data dilakukan dengan *one way ANOVA* dan uji *post hoc* Duncan, menggunakan program IBM SPSS Statistics versi 25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji viabilitas

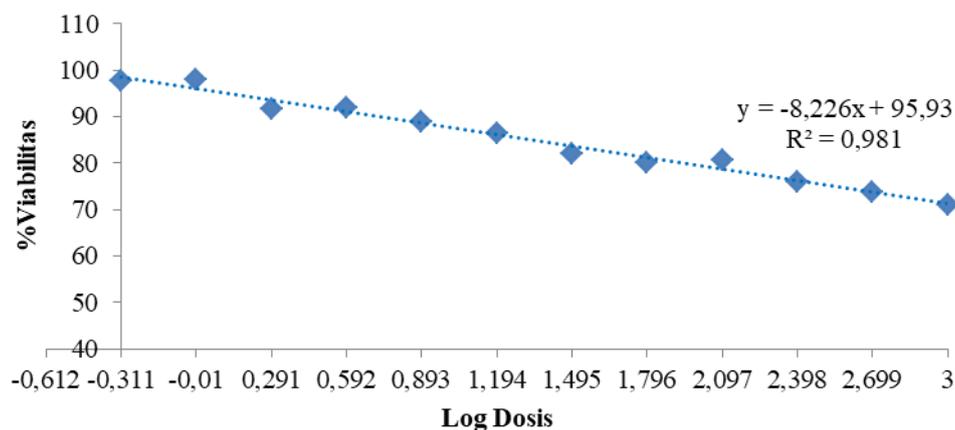
Uji viabilitas sel RAW 264.7 pada pemberian *crude extract* fukoidan menunjukkan adanya penurunan jumlah sel hidup seiring dengan peningkatan dosis. Nilai persentase viabilitas secara berurut dari dosis terkecil adalah $97,79 \pm 0,36$; $98,02 \pm 4,86$; $91,63 \pm 0,36$; $92,02 \pm 1,43$; $88,78 \pm 1,07$; $86,41 \pm 0,36$; $82,15 \pm 0,83$; $80,09 \pm 0,41$; $80,73 \pm 2,02$; $75,99 \pm 0,83$; $73,78 \pm 1,71$; dan $71,09 \pm 0,63\%$.

Dosis yang menghasilkan persentase viabilitas dibawah 80% dikategorikan sebagai dosis yang bersifat toksik terhadap sel.¹⁵⁻¹⁷ Uji viabilitas, menunjukkan dosis 0-125 µg/mL merupakan dosis yang aman terhadap sel RAW 264.7 dengan persentase viabilitas di atas 80%; sedangkan dosis 250, 500, dan 1000 µg/mL menghasilkan persentase viabilitas di bawah 80%. Untuk menentukan dosis maksimal yang menghasilkan viabilitas

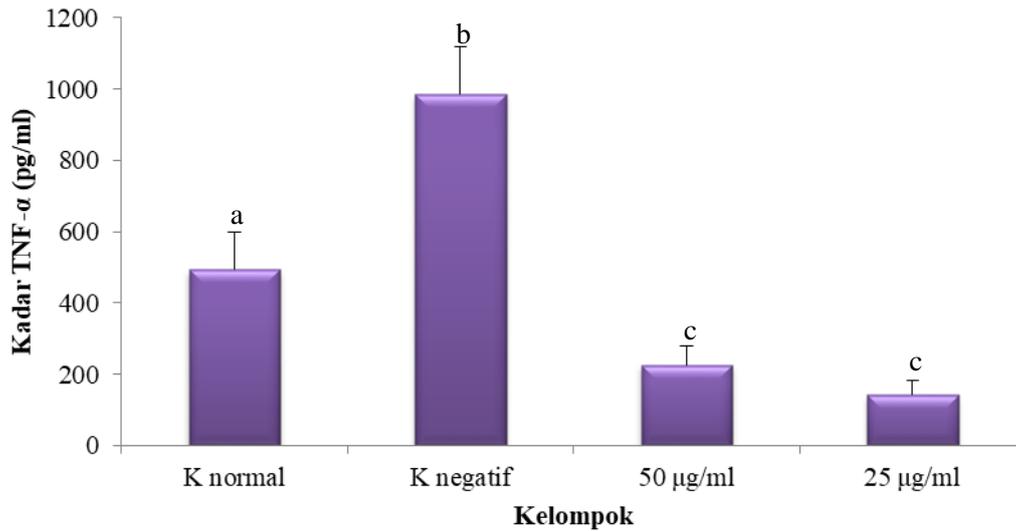
sebesar 80%, dibuat persamaan garis linear antara log dosis sebagai *x* dan persentase viabilitas sebagai *y* (Gambar 1). Nilai 80 dimasukkan sebagai *y* dalam persamaan garis, sehingga diperoleh nilai antilog *x* sebesar 86 µg/mL. Dosis ini merupakan dosis maksimal yang dapat digunakan. Penelitian ini menggunakan dosis 25 dan 50 µg/mL untuk uji antiinflamasi.

Uji antiinflamasi

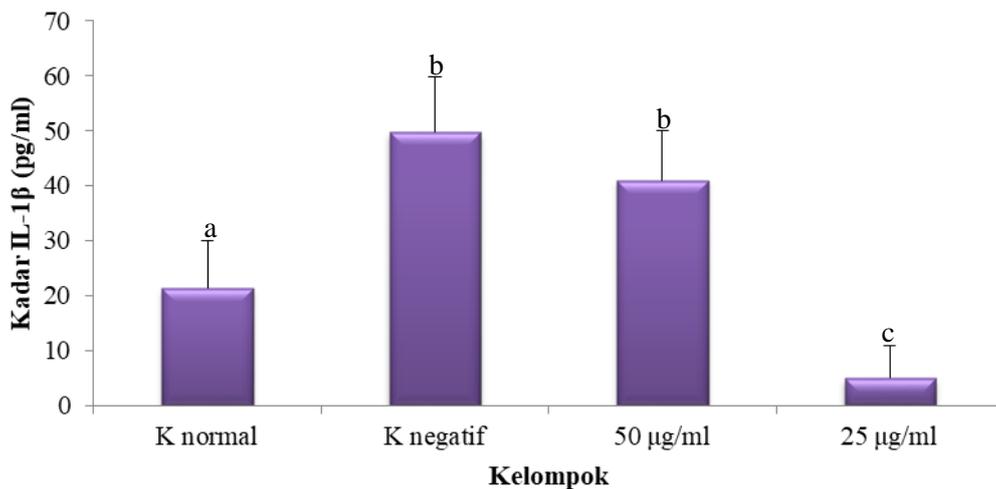
Penelitian ini menunjukkan LPS terbukti meningkatkan kadar TNF-α, IL-1β, dan IL-6 secara signifikan dibandingkan dengan sel RAW 264.7 normal (*p* < 0,05) (Gambar 2-4). Kadar TNF-α pada kelompok yang diberi bahan uji *crude extract* fukoidan secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif (*p* < 0,05) dengan nilai sebesar $227,27 \pm 51,32$ pg/mL pada kelompok dosis 50 µg/mL dan $142,17 \pm 39,95$ pg/mL pada kelompok dosis 25 µg/mL. Persentase penghambatan tertinggi diperoleh pada dosis 25 µg/mL yaitu sebesar $85,57 \pm 4,05\%$, sedangkan pada dosis 50 µg/mL persentase penghambatan TNF-α yang dihasilkan sebesar $76,94 \pm 5,21\%$.



Gambar 1. Kurva regresi linear antara log dosis dengan persentase viabilitas



Gambar 2. Kadar TNF- α pada sel RAW 264.7 normal, sel stimulasi LPS, dan sel stimulasi LPS yang diberi bahan uji dosis 50 μ g/mL dan 25 μ g/mL.

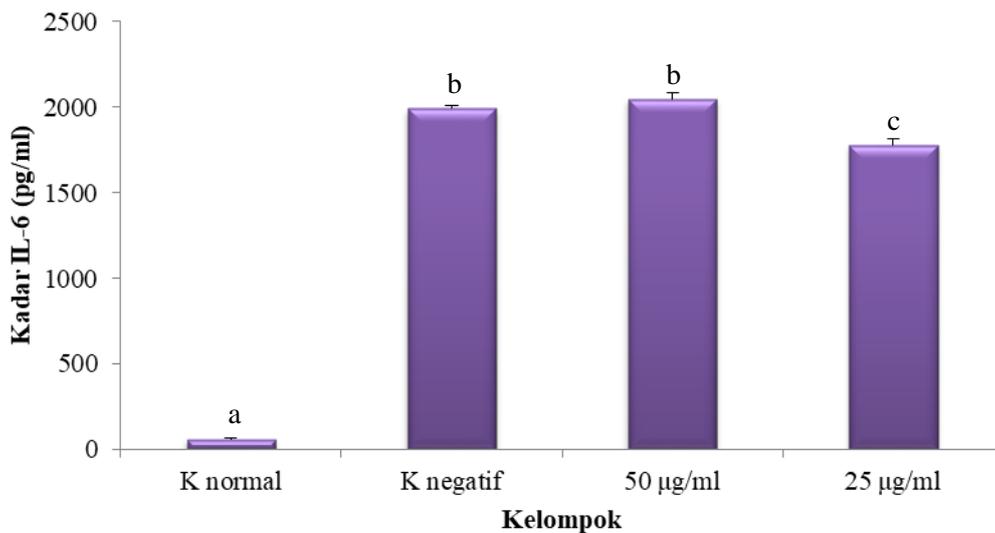


Gambar 3. Kadar IL- β pada sel RAW 264.7 normal, sel stimulasi LPS, dan sel stimulasi LPS yang diberi bahan uji dosis 50 μ g/mL dan 25 μ g/mL.

Pemberian bahan uji dosis 50 μ g/mL pada sel RAW 264.7 tidak menghasilkan penurunan kadar IL-1 β yang signifikan. Pada dosis 25 μ g/mL, kadar IL-1 β secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$), yaitu sebesar $4,93 \pm 5,99$ pg/mL dengan nilai persentase penghambatan mencapai $90,08 \pm 12,05\%$. Kadar IL-6 pada pemberian bahan uji dosis 50 μ g/mL tidak menunjukkan perbedaan dengan kontrol negatif. Pada dosis 25 μ g/mL, kadar IL-6 yang dihasilkan sel sebesar $1779,29 \pm 38,15$ pg/mL dengan persentase

penghambatan sebesar $10,70 \pm 1,91\%$. Hasil ini signifikan secara statistik ($p < 0,05$).

Secara teoritis, fukoidan memiliki aktivitas menekan berbagai rute inflamasi antara lain pembentukan ROS, stimulasi sitokin proinflamasi dan molekul adesi, serta aktivasi faktor transkripsi NF- κ B.⁵ Penelitian ini membuktikan efektivitas *crude extract* fukoidan dalam menekan jumlah sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 yang dihasilkan oleh sel makrofag pada pemberian dosis rendah yaitu 25 μ g/mL.



Gambar 4. Kadar IL-6 pada sel RAW 264.7 normal, sel stimulasi LPS, dan sel stimulasi LPS yang diberi bahan uji dosis 50 µg/mL dan 25 µg/mL

Beberapa penelitian menunjukkan spesies ganggang cokelat lainnya telah menunjukkan aktivitas yang serupa. Ekstrak polisakarida dari *S. Horneri* yang diekstraksi dengan metode *enzymatic digest* menekan kadar TNF- α dan IL-1 β dengan pola *dose-dependent* pada model uji yang serupa melalui penghambatan fosforilasi p38 dan ERK pada jalur MAPK dan penghambatan translokasi NF- κ B p50 dan p65 ke nukleus.¹⁸

Penelitian Jeong *et al.* terhadap fukoidan dari *Fucus vesiculosus* (Sigma Aldrich) pada model uji yang sama menunjukkan bahwa fukoidan menghambat transkripsi gen NO, PGE2, COX2, TNF- α , dan IL-1 β , yang sejalan dengan penghambatan translokasi nuklear NF- κ B.¹⁹ Hwang *et al.*, menunjukkan ekstrak polisakarida dari *S. hemiphyllum* yang diekstraksi dengan air panasdapat menghambat IL-1 β , IL-6, dan TNF- α pada model uji *in vitro* yang sama. Pengujian dengan *western blot* menunjukkan bahwa ekspresi NF- κ B p65 terhambat.²⁰

Kim *et al.* menyatakan bahwa fukoidan berbobot molekul rendah yang diambil dari ganggang cokelat *Undaria pinnatifida* menekan produksi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α

pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS dengan pola *dose-dependent* melalui penghambatan jalur MAPK. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan aktivasi p38 MAPK, ERK2, dan JNK.²¹

Sebagai stimulus inflamasi, LPS bekerja melalui interaksi dengan TLR4 dan menyebabkan stimulasi jalur inflamasi MAPK. Setelah aktivasi MAPK oleh LPS, terjadi fosforilasi I- κ B melalui I- κ B kinase yang menyebabkan pemecahan kompleks I- κ B yang diikuti dengan aktivasi NF- κ B. Kemudian NF- κ B bertranslokasi ke nukleus dan mengaktifasi transkripsi berbagai gen antara lain COX-2, molekul adesi, TNF- α , iNOS, lipoksigenase, IL-6, IL-1, kemokin, dan mediator proinflamasi lainnya.^{4,5,22} NF- κ B dan TNF- α memiliki kaitan timbal balik yang positif dan menjadi kunci kondisi inflamasi kronis. Interaksi TNF- α dengan reseptor TNF mengaktifkan jalur inflamasi MAPK. Hal ini menjelaskan kemampuan TNF- α untuk menginduksi sitokin inflamasi lainnya, antara lain IL-6 dan IL-8. IL-6 juga dapat diinduksi oleh interaksi IL-1 β dengan reseptor IL-1, yang juga mengaktifkan jalur MAPK.²³ Berdasarkan penelitian sebelumnya, penurunan kadar IL-1 β , IL-6,

dan TNF- α sejalan dengan penghambatan aktivitas MAPK dan NF- κ B. Diduga pada penelitian ini, sampel *crude extract* fukoidan juga bekerja menghambat aktivasi MAPK dan NF- κ B sehingga kadar sitokin yang terukur lebih rendah dibandingkan dengan kondisi inflamasi.

Sementara aktivitas antiinflamasi fukoidan uji pada penelitian ini terlihat pada dosis rendah, dosis tinggi tidak menunjukkan penurunan kadar IL-1 β dan IL-6. Hal ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan hubungan berbanding lurus antara dosis dengan aktivitas penghambatan sitokin. Diduga hal ini terjadi karena adanya aktivitas imunostimulan pada *crude extract* fukoidan uji seperti yang ditunjukkan dalam penelitian terdahulu.

Penelitian Decheng *et al.* mengisolasi fukoidan berbobot molekul rendah (<10 kDa) dari *U. pinnatifida*. Fukoidan uji ini meningkatkan kadar NO, TNF- α , dan IL-6 pada sel RAW 264.7. Selain itu, ekspresi mRNA kedua sitokin tersebut juga secara signifikan lebih tinggi, yang terjadi akibat stimulasi aktivasi NF- κ B. Jalur persinyalan MAPK juga teraktivasi melalui peningkatan fosforilasi terutama pada p38 MAPK dan JNK.²⁴

Ekstrak polisakarida dari *S. fusiforme* menunjukkan aktivitas imunostimulan melalui peningkatan kadar TNF- α dan IL-1 pada mencit Balb/c yang diinduksi sel adenokarsinoma paru A549.²⁵ *Crude extract* dan fraksi polisakarida dari *S. angustifolium* meningkatkan ekspresi gen NO, TNF- α , IL-1 β , IL-12 dan IL-6 melalui peningkatan fosforilasi ERK dan JNK sehingga memicu peningkatan aktivitas faktor transkripsi NF- κ B.²⁶

Penelitian sebelumnya juga menunjukkan efek bifungsi fukoidan terhadap NO. Fukoidan dari *Laminaria japonica* (Sigma) dosis rendah (10 μ g/mL) menginduksi iNOS pada sel RAW 264.7, sedangkan pada dosis tinggi ekspresi iNOS tidak berbeda signifikan dengan kontrol normal. Pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS, fukoidan dosis tinggi

tersebut berhasil menekan ekspresi iNOS. Aktivitas ini tidak melibatkan penghambatan aktivasi NF- κ B, melainkan penghambatan pada faktor transkripsi AP-1.²⁷

Pada dosis rendah, *crude extract* fukoidan uji menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan mediator TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Sebaliknya pada dosis tinggi, kemungkinan *crude extract* fukoidan uji memberikan aktivitas imunostimulan melalui stimulasi sitokin TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. *Dual effect* juga dapat ditemukan pada senyawa kurkumin, yaitu sebagai antioksidan dan prooksidan. Salah satu faktor yang memengaruhi aktivitas ganda kurkumin adalah dosis yang digunakan.²⁸ Dalam strategi pengobatan, efek imunostimulan fukoidan dapat dimanfaatkan sebagai terapi antitumor.^{8,29}

Fukoidan memiliki karakteristik yang unik, tergantung pada spesies asal dan metode ekstraksi. Kedua faktor ini memengaruhi karakteristik fukoidan, seperti susunan struktur kimia, kandungan senyawa polisakarida dan non polisakarida, serta bobot molekul. Beberapa penelitian juga telah mencoba menemukan hubungan antara struktur dengan aktivitas fukoidan melalui karakterisasi struktur molekul fukoidan dengan FTIR dan NMR serta modifikasi struktur kimia fukoidan, dan melihat pengaruhnya terhadap aktivitas.^{26,30,31} Sampel *crude extract* fukoidan yang digunakan pada penelitian ini belum dilengkapi dengan informasi karakteristik yang memadai, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk memahami kaitan antara komposisi ekstrak dengan aktivitasnya.

KESIMPULAN

Crude extract fukoidan dari *S. crassifolium* perairan Garut - Jawa Barat, yang diekstraksi dengan larutan asam menurunkan kadar TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 pada dosis 25 μ g/mL.

SARAN

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui jalur penghambatan sitokin proinflamasi. Selain itu, penelitian dapat dilakukan terhadap *crude extract* fukoidan dosis tinggi untuk menggali potensinya sebagai imunomodulator.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Simlitabmas Kemenristek-DIKTI melalui Hibah Tim Pasca Sarjana yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Tabas I, Glass CK. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: Challenges and opportunities. *Science*. 2013;339(6116):166–72.
2. Ahmed AU. An overview of inflammation: Mechanism and consequences. *Front Biol China*. 2011;6(4):274–81.
3. Ridker PM, Luscher TF. Anti-inflammatory therapies for cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2014;35(27):1782–91.
4. Castaneda OA, Lee SC, Ho CT, Huang TC. Macrophages in oxidative stress and models to evaluate the antioxidant function of dietary natural compounds. *J Food Drug Anal*. 2017;25(1):111–8.
5. Phull AR, Kim SJ. Fucoidan as bio-functional molecule: Insights into the anti-inflammatory potential and associated molecular mechanisms. *J Funct Foods*. 2017;38:415–26.
6. Fitton JH, Stringer DN, Karpinić SS. Therapies from fucoidan: An update. *Mar Drugs*. 2015;13(9):5920–46.
7. Shen P, Yin Z, Qu G, Wang C. 11 - Fucoidan and Its Health Benefits. *Bioactive Seaweeds for Food Applications*. Elsevier Inc.; 2018. 223-238 p.
8. Ale MT, Meyer AS. Fucoidans from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *R Soc Chem*. 2013;3:8131–41.
9. Suryani A. Uji aktivitas antiplatelet fukoidan dari rumput laut coklat (*Sargassum crassifolium*) yang diperoleh dari perairan Garut dengan waktu panen yang berbeda. [Skripsi] Fak Farm Univ Pancasila. 2018;34–41.
10. 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.
11. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Benink HA, Worzella TJ. *Cell Viability Assays. Assay Guid Man*. 2016;1–31.
12. Elabscience. ELISA KIT USER MANUAL Mouse IL-1 β . Vol. 7. 2017. 1-11 p.
13. Elabscience. ELISA KIT USER MANUAL Mouse IL-6. Vol. 7. 2017. 1-11 p.
14. Elabscience. ELISA KIT USER MANUAL Mouse TNF- α . Vol. 7. 2017. 1-11 p.
15. Muniandy K, Gothai S, Badran KMH, Kumar SS, Esa NM, Arulselvan P. Suppression of Proinflammatory Cytokines and Mediators in LPS-Induced RAW 264 . 7 Macrophages by Stem Extract of *Alternanthera sessilis* via the Inhibition of the NF- κ B Pathway. *J Immunol Res*. 2018;2018:1–12.
16. Wu J, Liu K, Shi X. The anti-inflammatory activity of several flavonoids isolated from *Murraya paniculata* on murine macrophage cell line and gastric epithelial. *Pharm Biol*. 2016;54(5):868–81.
17. Soonthornsit N, Pitaksutheepong C, Hemstapat W, Utaisincharoen P, Pitaksuteepong T. In Vitro Anti-Inflammatory Activity of *Morus alba* L . Stem Extract in LPS-Stimulated RAW 264 . 7 Cells. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2017;2017:1–8.
18. Sanjeewa KKA, Fernando IPS, Kim EA, Ahn G, Jee Y, Jeon YJ. Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide isolated from an enzymatic digest of brown seaweed *Sargassum horneri* in RAW 264.7 cells. *Nutr Res Pract*. 2017;11(1):3–10.
19. Jeong J, Hwang SJ, Han MH, Lee D, Yoo JS, Choi I. Fucoidan inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages

- and zebrafish larvae. *Mol Cell Toxicol.* 2017;13:405–17.
20. Hwang P, Chien S, Chan Y, Lu M, Wu C, Kong Z, et al. Inhibition of Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammatory Responses by Sargassum hemiphyllum Sulfated Polysaccharide Extract in RAW 264.7 Macrophage Cells. *J Agric Food Chem.* 2011;59:2062–8.
 21. Kim K, Yoon K, Lee B. Low molecular weight fucoidan from the sporophyll of *Undaria pinnatifida* suppresses inflammation by promoting the inhibition of mitogen-activated protein kinases and oxidative stress in RAW264.7 cells. *Fitoterapia.* 2012;83(8):1628–35.
 22. Killeen MJ, Linder M, Pontoniere P, Crea R. NF-kb signaling and chronic inflammatory diseases: exploring the potential of natural products to drive new therapeutic opportunities. *Drug Discov Today.* 2014;19(4):373–8.
 23. Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014;25(4):453–72.
 24. Decheng B, Yu B, Han Q, Lu J, White WL, Lai Q. Immune activation of RAW264.7 macrophages by low molecular weight fucoidan extracted from New Zealand *Undaria pinnatifida*. *J Agric Food Chem.* 2018;66(41):10721–8.
 25. Chen X, Nie W, Yu G, Li Y, Hu Y, Lu J, et al. Antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Sargassum fusiforme*. *Food Chem Toxicol.* 2012;50(3–4):695–700.
 26. Borazjani NJ, Tabarsa M, You S, Rezaei M. Purification, molecular properties, structural characterization, and immunomodulatory activities of water soluble polysaccharides from *Sargassum angustifolium*. *Int J Biol Macromol.* 2017;
 27. Li P, Wang H, Shao Q, Kong B, Qu XUN. Fucoidan modulates cytokine production and migration of THP - 1 - derived macrophages via colony - stimulating factor - 1. *Mol Med Rep.* 2017;15:2325–32.
 28. Ramirez-tortosa M. Curcumin and Health. *Molecules.* 2016;21(264):1–22.
 29. Shen P, Yin Z, Qu G, Wang C. Fucoidan and Its Health Benefits. *Bioactive Seaweeds for Food Applications.* Elsevier Inc.; 2018. 223-238 p.
 30. Cho M, Lee D, Kim J, You S. Molecular characterization and immunomodulatory activity of sulfated fucans from *Agarum cribrosum*. *Carbohydr Polym.* 2014;113:507–14.
 31. Zhang Z, Till S, Jiang C, Knappe S, Reutterer S, Scheiflinger F, et al. Structure-activity relationship of the pro- and anticoagulant effects of *Fucus vesiculosus* fucoidan. *Thromb Haemost.* 2014;111:429–37.

Faktor-Faktor yang Memengaruhi *Clinical Outcome* Nyeri pada Pasien Diabetes Neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta

The Factors Influencing Clinical Outcome of Pain in Patient with Diabetic Neuropathy Patient in Internal Medicine Clinics of Yogyakarta City General Hospital

Dirga^{1*}, Agung Endro Nugroho², I Dewa Putu Pramantara³

Program Studi Farmasi, Institut Teknologi Sumatera, Lampung, Indonesia

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Email: dhirgasykr@gmail.com

Diterima: 04 September 2018

Direvisi: 26 Juni 2019

Disetujui: 26 Juli 2019

Abstrak

Pengobatan terhadap nyeri diabetes neuropati belum memiliki panduan yang jelas, hal ini dikarenakan adanya tanggapan yang berbeda-beda terhadap respon nyeri tiap individu. Di Indonesia sendiri, data mengenai faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri terbatas pada pengukuran toleransi, persepsi dan sensitivitas terhadap suatu nyeri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran *clinical outcome* nyeri dan faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta. Desain penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pendekatan *cross sectional* dan pengambilan subjek uji dilakukan dengan metode *consecutive sampling* pada 81 pasien nyeri diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta periode Januari-April 2016. Pasien yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pengukuran tingkat nyeri dengan menggunakan *Visual Analog Scale* (VAS). Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan analisis *Chi Square* dan analisis regresi logistik. Hasil penelitian menunjukkan pasien dengan tercapainya *clinical outcome* nyeri sebanyak 60 orang (74,07%) dan yang tidak tercapai sebanyak 21 orang (25,93%). Faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati adalah BMI non-obesitas ($p = 0,043$), lama diabetes < 5 tahun ($p = 0,022$), penggunaan antikonvulsan ($p = 0,039$), dan vitamin neurotropik ($p = 0,002$). Hasil uji regresi logistik menunjukkan bahwa vitamin neurotropik merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap *clinical outcome* nyeri neuropati pada pasien diabetes neuropati dengan nilai $p = 0,013$, OR = 11,109, CI = (1,668-73,970).

Kata Kunci: Diabetes neuropati; Nyeri neuropati; *Clinical outcome*

Abstract

The treatment of diabetic neuropathy pain has not possessed an explicit guideline therapy yet, due to the difference perception towards the respond of pain from certain individu. In indonesia, the data regarding factors that could affect clinical outcome of pain are still limited to the measurement of tolerance, perception, and sensitivity of certain pain. This study aims to describe the clinical outcome of pain along with the affected factors for diabetic neuropathy patients in Internal Medicine Clinics of Yogyakarta City General Hospital. The design of this This study is an analytical descriptive with cross sectional approach to 81 patients of diabetic neuropathy pain. The pain level measurement of patient is conducted with Visual Analog Scale (VAS) Instrument. The obtained data are analyzed statistically by applying Chi Square and logistical regression analysis. The results of this study showed that 60 patients (74,07%) had reached clinical outcome of pain, and 21 patients (25,93%) had not reached clinical outcome of pain. Factors that affecting clinical outcome of pain to diabetic neuropathy patients were BMI non-obesity ($p = 0.043$), period of diabetic less than 5 year ($p = 0.022$), anticonvulsant consuming ($p = 0.039$), and neurotropic vitamin ($p = 0.002$). According to the result of multivariate analysis by applying logistical regression test, neurotropic vitamin was claimed as the most influential factor towards clinical outcome of neuropathy pain to diabetic neuropathy patients with $p = 0.013$, OR = 11.109, and CI = (1,668-73,970).

Keywords: Neuropathy diabetic; Neuropatic pain; Clinical outcome

PENDAHULUAN

Diabetes neuropati adalah istilah deskriptif yang mencakup gejala klinis dan subklinis dengan menunjukkan berbagai perbedaan gejala klinis, tergantung dari mekanisme yang terlibat.¹ Diantara pasien dengan diabetes neuropati perifer (n=1338), terdapat sekitar 577 pasien (43,1%) yang didiagnosis dengan nyeri diabetes neuropati perifer.² Nyeri diabetes neuropati perifer secara independen terkait dengan usia (dimana kejadian nyeri lebih sering terjadi pada usia tua tetapi tidak berbeda signifikan $p = 0,07$), jenis kelamin (lebih umum terjadi pada wanita dibanding pria masing-masing 46,2% vs 39,3% $p = 0,01$), lama menderita diabetes, kadar glukosa puasa, HbA1c hipertensi, dan peristiwa serebrovaskular sebelumnya.²

Persepsi nyeri pada tiap individu merupakan komponen penting dari penilaian pengobatan dan nyeri. Penelitian klinis dan eksperimental menunjukkan bahwa rasa sakit yang dirasakan, dinilai, dan diperlakukan secara berbeda tergantung pada jenis kelamin, ras/etnis, dan usia seseorang.³ Tidak ada panduan yang jelas ketika memulai terapi simptomatik nyeri, hal ini dikarenakan sebagian pilihan pengobatan tidak mengubah perjalanan penyakit. Banyak variabel yang dinilai dalam percobaan pengobatan untuk nyeri neuropati, dan meningkat secara paralel dengan menurunnya rasa sakit.⁴ Sejauh yang diamati, penelitian mengenai faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri di Indonesia masih terbatas pada pengukuran yang bersifat pengukuran toleransi, persepsi dan sensitifitas terhadap suatu nyeri, sehingga penilaian faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati sangat penting untuk dilakukan. RSUD Kota Yogyakarta yang juga dikenal dengan nama RSUD Jogja merupakan rumah sakit rujukan wilayah kota Yogyakarta bagian selatan dan timur. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri

pada pasien diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta.

METODE

Rancangan penelitian ini adalah penelitian non-eksperimental (deskriptif-analitik) dengan desain potong lintang (*cross sectional*). Pengambilan subjek uji dilakukan dengan metode *consecutive sampling* yaitu semua pasien yang datang dan memenuhi kriteria inklusi serta menyetujui *informed consent* dimasukkan dalam penelitian. Pasien yang diambil adalah pasien yang kontrol di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta dan telah mendapatkan terapi nyeri sebelum penelitian dilaksanakan kemudian dilakukan pengukuran *clinical outcome* nyeri yang dilakukan dengan menggunakan nilai data skoring *Visual Analog Scale* (VAS) yang diberikan kepada pasien melalui kuisioner, dimana pasien akan ditanyakan mengenai intensitas nyeri yang dirasakan sebulan sebelumnya dan nyeri yang dirasakan sekarang saat kontrol di rumah sakit di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta. Kuisioner yang telah diisi kemudian dikembalikan dan dilakukan analisis. Pada penelitian ini ketercapaian *clinical outcome* pada pasien nyeri diabetes neuropati bermakna jika terjadi penurunan sebesar $\geq 50\%$ untuk nyeri awal kategori berat, $\geq 30\%$ untuk nyeri awal kategori sedang, dan $\geq 15-20\%$ pada nyeri awal kategori ringan.⁵ Analisis data dilakukan dalam tiga tahapan meliputi :

1. Analisis deskriptif, mendeskripsikan distribusi dari masing-masing variabel yang diamati meliputi demografi pasien (usia, jenis kelamin, *Body Mass Index* (BMI), pendidikan), terapi nyeri, kadar gula darah (Gula Darah Puasa (GDP) dan Gula Darah 2 jam Postprandial (GD2PP), dan lama menderita DM yang dijelaskan dengan ukuran persentase.
2. Analisis bivariat, digunakan untuk melihat hubungan antara masing-

masing variabel independen terhadap variabel dependen dengan menggunakan uji *Chi Square*. Tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 5% ($\alpha=0,05$) dengan *Confidence Interval* yang ditetapkan adalah 95%. Dari hasil analisis bivariat yang telah dilakukan, variabel yang mempunyai kemaknaan statistik ($p<0,25$) akan dilanjutkan ke analisis multivariat, penetapan $p<0,25$ ini berdasarkan pengamatan empiris dari berbagai penelitian sebelumnya, di mana bila memasukkan nilai p yang lazim ($p<0,05$) seringkali tidak berhasil mengidentifikasi variabel bebas yang dianggap penting.⁶

- Analisis multivariat, uji statistik yang digunakan adalah uji regresi logistik dengan tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 5% ($\alpha=0,05$) dengan *Confidence Interval* yang ditetapkan adalah 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik pasien

Penelitian dilakukan di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta periode Januari-April 2016 dengan menggunakan *consecutive sampling* dimana jumlah pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta setuju untuk mengikuti penelitian berjumlah 81 pasien. Responden akan dinilai *clinical outcome* nyerinya dengan menggunakan VAS melalui pemberian kuisioner. Untuk usia subyek yang digunakan pada penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok yaitu ≥ 60 dan < 60 tahun, persentase pasien nyeri diabetes neuropati yang berusia ≥ 60 (61,7%) tahun lebih banyak dibandingkan dengan pasien yang berusia < 60 tahun (38,3%). Untuk kategori BMI, pasien yang obesitas lebih kecil dibandingkan dengan pasien yang non-obesitas (59,3%). Sedangkan untuk pendidikan pasien yang menempuh pendidikan wajib belajar > 12 tahun (24,7%) lebih kecil dibandingkan ≤ 12 (75,3%). Pada kategori lama diabetes pasien yang menderita diabetes ≥ 5 tahun

(70,4%) lebih banyak dibandingkan < 5 tahun (29,6%). Kadar gula darah puasa yang terkendali (45,7%) lebih kecil dibandingkan yang tidak terkendali (54,3%) sedangkan untuk kadar gula darah 2 jam setelah makan terkendali lebih kecil (37,0%) dibandingkan yang tidak terkendali (63,0%). Karakteristik umum subyek penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik dasar subyek penelitian

Kategori	n = 81 (%)
Usia	
< 60	31 (38,3)
≥ 60	50 (61,7)
Jenis Kelamin	
Laki-laki	30 (37,0)
Perempuan	51 (63,0)
BMI	
Non-obesitas	48 (59,3)
Obesitas	33 (40,7)
Pendidikan	
≤ 12 Tahun	61 (75,3)
> 12 Tahun	20 (24,7)
Lama Diabetes	
< 5 tahun	24 (29,6)
≥ 5 tahun	57 (70,4)
Kadar GDP	
Terkendali	37 (45,7)
Tidak terkendali	44 (54,3)
Kadar GD2PP	
Terkendali	30 (37,0)
Tidak Terkendali	51 (63,0)

Terapi merupakan salah satu cara yang efektif untuk dapat meningkatkan target penurunan nyeri. Distribusi persepan obat yang diberikan pada pasien nyeri diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta terangkum dalam Tabel 2. Pada Tabel terlihat bahwa obat-obat yang digunakan untuk penanganan nyeri diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta menggunakan obat-obat golongan anti konvulsan serta vitamin neurotropik. Pasien yang menggunakan obat golongan anti konvulsan sebanyak 54,3%, terdiri dari gabapentin dan pregabalin. Selain itu hampir sebagian besar pasien yang didiagnosa nyeri diabetes neuropati

menggunakan vitamin neurotropik dimana 90,1% pasien mendapatkan vitamin yang terdiri dari mecobalamin, asam folat dan vitamin B kompleks. Diantara obat golongan anti konvulsan, penggunaan gabapentin dan pregabalin telah didukung secara klinis untuk penanganan dalam beberapa kondisi nyeri neuropati (nyeri diabetes neuropati, *neuralgia postherpetic*, dan nyeri neuropati sentral) dan fibromyalgia, meskipun hanya sebagian kecil orang yang dapat menerima respon klinis yang baik. Akan tetapi diketahui bahwa kualitas hidup dan fungsi membaik dengan hasil minimal 50% pengurangan intensitas nyeri pada penggunaan obat-obat tersebut.⁷

Tabel 2. Distribusi obat yang diberikan pada pasien diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta

n = 81 (%)	
Golongan Obat*	
Anti Konvulsan	
Ya	46 (56,8)
Tidak	35 (43,2)
Vitamin neurotropik	
Ya	73 (90,1)
Tidak	8 (9,9)

*Satu pasien dapat memperoleh lebih dari satu macam terapi

Menurut *guideline* ada beberapa jenis obat yang dapat digunakan untuk menangani nyeri diabetes neuropati yaitu antikonvulsan, *tricyclic antidepressants*, *selective serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors* (SSNRIs), *opioids*, dan vitamin neurotropik.⁸

Pada penelitian ini pasien nyeri diabetes neuropati hanya mendapatkan obat antikonvulsan dan tambahan vitamin neurotropik. Hal ini disebabkan pola persepsian nyeri diabetes neuropati di RSUD Kota Yogyakarta didasarkan pada ketersediaan obat. Selain itu obat nyeri diabetes yang diberikan kepada pasien hanya untuk penggunaan selama seminggu saja, sehingga pasien disarankan untuk kembali setiap minggunya atau dapat memperoleh sendiri dengan membeli obat tersebut di luar rumah sakit.

Karakteristik nyeri dilakukan untuk melihat jenis dari rasa nyeri tersebut dan untuk mengetahui jenis nyeri pada pasien nyeri diabetes neuropati dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik subjektif nyeri pasien nyeri diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta

Karakteristik Subjektif Nyeri	Jumlah Pasien	Karakteristik Subjektif Nyeri	Jumlah Pasien
Kram	56	Berdenyut	9
Kebas	33	Kesemutan	20
Menusuk	26	Tajam	10
Kaku	35	Pegal	3
Panas terbakar	17	Tebal	5
Perih	39	Kemeng	1

Satu pasien dapat mengalami lebih dari satu karakteristik subjektif nyeri

Tipe nyeri yang dialami oleh pasien dibagi dalam tiga kategori yaitu kategori ringan (nilai VAS 1-3), kategori sedang (Nilai VAS 4-6) dan kategori berat (Nilai VAS 7-10). Kategori tersebut didasarkan pada pengukuran nilai VAS sebelum pasien mengkonsumsi terapi nyeri yang diberikan.

Tabel 4. Deskripsi *clinical outcome* nyeri yang dialami pasien diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta

Kategori Nyeri Awal	<i>Clinical Outcome</i>		Jumlah n = 81 (%)
	Tercapai	Tidak Tercapai	
Ringan	37	1	38 (46,91)
Sedang	23	17	40 (49,38)
Berat	0	3	3 (3,71)
Total	60 (74,07)	21 (25,93)	81 (100)

Pada penelitian ini kategori nyeri awal pasien dibagi menjadi 3 kategori yaitu nyeri ringan, sedang dan nyeri berat. Kategori diatas adalah merupakan kategori nyeri yang dirasakan oleh pasien sebelum mengkonsumsi obat kemudian dilakukan perbandingan dengan nilai VAS akhir yaitu ketika pasien telah mengkonsumsi obat dan melakukan kontrol di rumah sakit, hasil perbandingan tersebut digunakan untuk menilai *clinical outcome* nyeri yang dirasakan oleh pasien dan hasil yang diperoleh akan dianalisis dan dibagi

menjadi dua kategori yaitu kategori tercapainya *clinical outcome* nyeri dan yang tidak tercapai. Pasien dikatakan tercapai *clinical outcome* nyeri nya bila target penurunan nyeri sesuai dengan standar, yaitu mengalami penurunan 15-20% untuk nyeri kategori ringan, $\geq 30\%$ untuk nyeri kategori sedang, $\geq 50\%$ untuk nyeri kategori berat.⁶

Identifikasi faktor risiko terhadap *clinical outcome* nyeri pasien diabetes neuropati

Untuk mengetahui hubungan *clinical outcome* nyeri diabetes neuropati dengan beberapa faktor risiko, dilakukan pengujian data menggunakan statistik. Data dapat dilihat pada Tabel 5.

Pada penelitian ini terlihat bahwa proporsi tercapainya *clinical outcome* nyeri pada laki-laki lebih tinggi dibandingkan wanita (80,0% vs 72,5%; *p value* 0.453). Hasil ini berbeda jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan dimana terdapat hubungan yang signifikan antara jenis kelamin dengan tingkat sensitifitas nyeri, wanita lebih sensitif terhadap nyeri jika dibandingkan dengan laki-laki, selain itu wanita lebih cenderung melaporkan/menyampaikan nyeri yang dirasakannya.⁹

Faktor BMI merupakan salah satu faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri diabetes neuropati pada penelitian ini, data yang diperoleh menunjukkan bahwa pasien non-obesitas yang tercapai *clinical outcome* nyeri nya lebih tinggi daripada pasien yang obesitas (83,3% vs 63,6%; *p value* 0,043). Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan bahwa berat badan memiliki hubungan terhadap *clinical outcome* nyeri diabetes neuropati dimana pasien yang obesitas secara signifikan memiliki tingkat nyeri yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pasien yang memiliki berat badan normal melalui beberapa metode pengukuran nyeri diabetes neuropati. Pasien dengan obesitas memiliki pengaruh terhadap toleransi nyeri dan ambang batas nyeri yang dapat

dirasakan, dimana hal ini dapat memengaruhi persepsi nyeri yang dirasakan oleh pasien.^{10,11}

Tabel 5. Hasil analisis bivariat melalui uji *Chi Square* terhadap faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pasien diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta

Variabel	Penurunan Nyeri		Nilai p
	Tercapai n (%)	Tidak Tercapai n (%)	
Usia, (n)			
< 60 (31)	25 (80,6)	6 (19,4)	0,380
≥ 60 (50)	36 (72,0)	14 (28,0)	
Jenis Kelamin (n)			
Laki-laki (30)	24 (80,0)	6 (20,0)	0,453
Perempuan (51)	37 (72,5)	14 (27,5)	
BMI (n)			
Non Obesitas (48)	40 (83,3)	8 (16,7)	0,043
Obesitas (33)	21 (63,6)	12 (36,4)	
Pendidikan* (n)			
\leq Wajib Belajar 12 Tahun (61)	44 (72,1)	17 (27,9)	0,372
$>$ Wajib Belajar 12 Tahun (20)	17 (85,0)	3 (15,0)	
Lama Diabetes (n)			
< 5 tahun (24)	14 (58,3)	10 (41,7)	0,022
≥ 5 tahun (57)	47 (82,5)	10 (17,5)	
Kadar GDP (n)			
Tercapai (37)	31 (83,8)	6 (16,2)	0,105
Tidak Tercapai (44)	30 (68,2)	14 (31,8)	
Kadar GD2PP (n)			
Tercapai (30)	20 (66,7)	10 (33,3)	0,167
Tidak Tercapai (51)	41 (80,4)	10 (19,6)	
Anti konvulsan (n)			
Ya (46)	35 (76,1)	11 (25,0)	0,039
Tidak (35)	19 (54,3)	16 (45,7)	
Vitamin Neurotropik* (n)			
Ya (73)	59 (80,8)	14 (19,2)	0,002
Tidak (8)	2 (25,0)	6 (75,0)	

Data dianalisis menggunakan *Chi Square* dengan taraf kepercayaan 95%,

Keterangan : *Uji Fisher Analisis

Status pendidikan merupakan salah satu faktor yang diukur pada penelitian ini, hasil analisa menunjukkan untuk faktor tingkat pendidikan diperoleh nilai $p = 0,372$ dan OR 0,457 dengan 95% CI = $0,119 < OR > 1,760$ sehingga tidak bermakna karena $p > 0,05$, Penelitian terhadap hubungan antara status tingkat pendidikan terhadap nyeri diabetes neuropati sangatlah terbatas, sejauh ini pembahasan terhadap pengaruh tersebut masih terkait dengan nyeri yang tidak berhubungan dengan diabetes neuropati seperti pengaruh status pendidikan terhadap nyeri pasca operasi, dimana berdasarkan penelitian tersebut ditemukan bahwa status pendidikan memiliki pengaruh yang signifikan terhadap nyeri pasca operasi.¹²

Faktor lama diabetes dibagi menjadi 2 kategori yaitu < 5 tahun dan ≥ 5 tahun, berdasarkan data penelitian diperoleh bahwa pasien yang menderita diabetes ≥ 5 tahun memiliki *clinical outcome* tercapai lebih tinggi dibandingkan yang tidak tercapai (82,5% vs 58,3%; p value 0,022). Hal ini berarti bahwa pasien dengan lama diabetes < 5 tahun memiliki risiko untuk mengalami penurunan nyeri yang tercapai sebesar 0,3 kali dibandingkan pada pasien dengan lama diabetes ≥ 5 tahun. Hal ini berbeda jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya dimana pada dasarnya lama diabetes merupakan salah satu faktor berperan penting terjadinya nyeri diabetes neuropati. Pasien dengan lama diabetes > 15 tahun memiliki faktor risiko yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pasien mengalami diabetes < 5 tahun.¹³

Penelitian ini juga menghubungkan faktor profil gula darah dengan ketercapaian *clinical outcome* pada pasien nyeri diabetik neuropati. Berdasarkan hasil yang diperoleh, faktor gula darah puasa dan gula darah 2 jam *post-prandial* tidak memiliki hubungan terhadap ketercapaian *clinical outcome* pada pasien nyeri diabetik neuropati (p value = 0,105 dan 0,167). Kontrol gula darah yang buruk dapat

terkait dengan terjadinya atau memburuknya neuropati perifer, tetapi hubungan antara perbaikan dalam kontrol glikemik yang dapat menurunkan intensitas nyeri neuropati masih menjadi subyek perdebatan.¹⁴ Selain itu, onset neuropati memiliki hubungan yang signifikan dengan kontrol gula darah.¹⁵

Pada penelitian ini beberapa pasien diberikan terapi antikonvulsan dan juga vitamin neurotropik, untuk pasien yang mendapatkan terapi antikonvulsan jumlah pasien yang mengalami ketercapaian *clinical outcome* lebih tinggi dibandingkan dengan pasien yang tidak mendapatkan terapi antikonvulsan (76,1% vs 54,3%; p value 0,039). Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menemukan bahwa penggunaan antikonvulsan seperti pregabalin dan gabapentin secara signifikan dapat mengurangi nyeri neuropati.¹⁶ Sedangkan untuk penggunaan vitamin neurotropik, proporsi ketercapaian *clinical outcome* pada pasien nyeri diabetes neuropati yang mendapatkan tambahan vitamin neurotropik lebih tinggi dibandingkan pada pasien yang tidak mendapatkan vitamin neurotropik (80,8% vs 25,0%; p value 0,002) hal ini sesuai dengan hasil penelitian meta analisis yang memberikan bukti bahwa pengobatan dengan *Alpha Lipoic Acid* (300-600 mg/hari i.v selama 2-4 minggu) adalah aman dan dapat secara signifikan meningkatkan baik kecepatan konduksi saraf dan gejala neuropati.¹⁷

Dari faktor-faktor yang telah dianalisis dengan menggunakan metode analisis bivariat. Ada beberapa faktor yang memiliki nilai $p < 0,05$ yaitu BMI, lama diabetes, penggunaan obat antikonvulsan dan vitamin neurotropik sehingga faktor tersebut dilanjutkan keanalisis multivariat. Selain itu juga ada beberapa faktor yang memiliki nilai $p < 0,25$ yaitu status pendidikan, kadar gula darah puasa serta kadar gula darah 2 jam post prandial. Maka faktor-faktor tersebut dapat dilanjutkan dalam analisis multivariat.

Tabel 6. Hasil analisis multivariat regresi logistik berdasarkan analisis bivariat *Chi Square* melihat faktor-faktor yang berhubungan terhadap *clinical outcome* nyeri diabetes neuropati.

Faktor Risiko	Koefisien	Nilai p	OR	95% CI
BMI (non-obesitas)	0,645	0,303	1,906	0,559-6,499
Lama diabetes < 5 tahun	-0,865	0,198	0,421	0,113-1,573
Antikonvulsan (Ya)	0,853	0,164	2,348	0,706-7,811
Vitamin neurotropik (Ya)	2,408	0,013*	11,109	1,668-73,970
GDP Terkendali	1,293	0,056	3,644	0,967-13,730
GD2PP Terkendali	-0,538	0,401	0,584	0,186-2,047
Konstanta	-1,770	0,128	0,170	

Keterangan: * Signifikan secara statistik ($p < 0,5$)
OR : Odds Ratio; CI : Confidence Interval.

Pada Tabel 6 menggambarkan bahwa, dari hasil analisis regresi logistik didapatkan bahwa faktor yang paling berpengaruh terhadap *clinical outcome* nyeri diabetes neuropati adalah faktor penggunaan vitamin neurotropik ($p=0,013 < 0,05$) dengan nilai OR 11,109 (> 1) dan nilai 95 % CI = 1,668-73,970 (tidak mencakup angka =1). Meskipun dianggap sebagai terapi tambahan pada pengobatan diabetes neuropati, vitamin neurotropik secara klinis dapat berfungsi sebagai analgetik pada penanganan nyeri diabetes neuropati karena berfungsi untuk menjaga dan menormalkan fungsi saraf dengan memperbaiki gangguan metabolisme sel saraf dan memberikan asupan yang dibutuhkan agar saraf dapat bekerja dengan baik.¹⁸ Pada penelitian ini ada beberapa jenis vitamin neurotropik yang digunakan yaitu vitamin B kompleks, mecobalamin serta asam folat (vitamin B9). Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu menggunakan desain *cross sectional*, sehingga hubungan sebab-akibat antar variabel tidak dapat

dipastikan. Pengukuran tingkat nyeri hanya dilakukan satu kali dalam satu waktu sehingga hanya dipengaruhi oleh kondisi saat itu atau persepsi saat itu serta sering menyebabkan bias karena beberapa pertanyaan menanyakan ingatan masa lampau (*Recall bias*) dan terdapat perbedaan *baseline* pada tiap individu pasien. Jumlah pasien yang digunakan masih terbatas dan tidak dapat dilakukan pengukuran kepatuhan minum obat pasien, selain itu pada penelitian ini tidak melihat faktor penggunaan terapi nonfarmakologi yang mungkin digunakan oleh pasien.

KESIMPULAN

Gambaran *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Kota Yogyakarta yaitu, 60 pasien (74,07%) yang *clinical outcome* nyerinya tercapai dan sebanyak 21 pasien (25,93%) tidak tercapai. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa faktor-faktor yang memengaruhi *clinical outcome* nyeri pada pasien diabetes neuropati adalah BMI non-obesitas ($p = 0,043$), lama diabetes < 5 tahun ($p = 0,022$), penggunaan antikonvulsan ($p = 0,039$) dan vitamin neurotropik ($p = 0,002$). Berdasarkan hasil analisis multivariat dengan menggunakan uji regresi logistik, vitamin neurotropik merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap *clinical outcome* nyeri neuropati pada pasien diabetes neuropati dengan nilai $p = 0,013$, OR = 11,109, CI = (1,668-73,970).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian untuk melihat faktor risiko yang memengaruhi efektifitas suatu obat nyeri diabetes neuropati serta faktor yang memengaruhinya. Bagi tenaga kesehatan, perlu dilakukan evaluasi terkait pemberian obat pada pasien nyeri diabetes neuropati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada direktur RSUD Kota Yogyakarta

dan jajarannya yang telah memberikan ijin penelitian dan membantu dalam pengambilan sampel penelitian.

DAFTAR RUJUKAN

1. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: Mechanisms to management. *Pharmacology & Therapeutics*. 2008;120(1):1–34.
2. Kim SS, Won JC, Kwon HS, Kim CH, Lee JH, Park TS, et al. Prevalence and clinical implications of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes: Results from a nationwide hospital-based study of diabetic neuropathy in Korea. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2014 Mar;103(3):522–9.
3. Wandner LD, Scipio CD, Hirsh AT, Torres CA, Robinson ME. The perception of pain in others: How gender, race, and age influence pain expectations. *The Journal of Pain*. 2012 Mar;13(3):220–7.
4. Hovaguimian A, Gibbons CH. Clinical approach to the treatment of painful diabetic neuropathy. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. 2011;2(1):27–38.
5. Dworkin RH, Turk DC, Wyrwich KW, Beaton D, Cleeland CS, Farrar JT, et al. Interpreting the Clinical Importance of Treatment Outcomes in Chronic Pain Clinical Trials: IMMPACT Recommendations. *The Journal of Pain*. 2008 Feb 1;9(2):105–21.
6. Dahlan M. *Statistik Untuk kedokteran dan Kesehatan*. 6th ed. Jakarta; 2014. 246 p.
7. Wiffen PJ, Derry S, Moore RA, Aldington D, Cole P, Rice ASC, et al. Antiepileptic drugs for neuropathic pain and fibromyalgia - an overview of Cochrane reviews. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013;11:CD010567.
8. Callaghan BC, Cheng HT, Stables CL, Smith AL, Feldman EL. Diabetic neuropathy: Clinical manifestations and current treatments. Vol. 11, *The Lancet Neurology*. 2012. p. 521–34.
9. Fillingim RB, King CD, Ribeiro-Dasilva MC, Rahim-Williams B, Riley JL. Sex, Gender, and Pain: A Review of Recent Clinical and Experimental Findings. *J Pain*. 2009 May;10(5):447–85.
10. Hozumi J, Sumitani M, Matsubayashi Y, Abe H, Oshima Y, Chikuda H, et al. Relationship between Neuropathic Pain and Obesity, Relationship between Neuropathic Pain and Obesity. *Pain Research and Management*, 2016 Mar. 2016:2487924.
11. Petkova M, Nikolov V, Mineva K, Petrova B. Psychological factors of correlation between pain tolerance, pain threshold and obesity. *Trakia Journal of Sciences*. 2014;12(1):381–84.
12. Lanitis S, Mimigianni C, Raptis D, Sourtse G, Sgourakis G, Karaliotas C. The impact of educational status on the postoperative perception of pain. *The Korean Journal of Pain*. 2015 Oct;28(4):265–74.
13. Bansal D, Gudala K, Muthyala H, Esam HP, Nayakallu R, Bhansali A. Prevalence and risk factors of development of peripheral diabetic neuropathy in type 2 diabetes mellitus in a tertiary care setting. *Journal of Diabetes Investigation*. 2014 Nov;5(6):714–21.
14. Hartemann A, Attal N, Bouhassira D, Dumont I, Gin H, Jeanne S, et al. Painful diabetic neuropathy: Diagnosis and management. *Diabetes & Metabolism*. 2011 Nov;37(5):377–8
15. Gibbons CH, Freeman R. Treatment induced diabetic neuropathy-a reversible painful autonomic neuropathy. *Annals of Neurology*. 2010 Apr;67(4):534–41.
16. Moore RA, Wiffen PJ, Derry S, Toelle T, Rice ASC. Gabapentin for chronic neuropathic pain and fibromyalgia in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014;4:CD007938.
17. Han T, Bai J, Liu W, Hu Y. Therapy of endocrine disease: A systematic review and meta-analysis of lipoic acid in the treatment of diabetic peripheral neuropathy. *European Journal of Endocrinology*. 2012 Oct;167(4):465–71.
18. Zhang M, Han W, Hu S, Xu H. Methylcobalamin: A Potential vitamin of pain killer. *Neural Plasticity*. 2013;2013:1–6.

Analisis Profil dan Faktor-Faktor yang Memengaruhi Perilaku Kepatuhan Pengobatan untuk Pasien Diabetes Mellitus Lanjut Usia

Profile Analysis and Factors Affecting Adherence Behaviour of Medication in Elderly Diabetic Patients

Andi Makkulawu^{1,2}, Adji Prayitno Setiadi^{3,4,*}, Tri Budi Wahyuni Rahardjo⁵, Eko Setiawan^{3,4}

¹Program Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

²Instalasi Farmasi Rumah Sakit Dr. M.M. Dunda, Limboto, Gorontalo, Indonesia

³Departemen Farmasi Klinis dan Komunitas, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

⁴Pusat Informasi Obat dan Layanan Kefarmasian (PIOLK), Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

⁵Center for Aging Studies, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

*E-mail: adji_ps@hotmail.com

Diterima: 7 September 2018

Direvisi: 23 Juni 2019

Disetujui: 26 Juli 2019

Abstrak

Kepatuhan penggunaan obat merupakan salah satu faktor penting dalam pengendalian kadar gula darah pasien diabetes mellitus (DM) yang pada akhirnya juga memengaruhi risiko terjadinya komplikasi. Profil dan faktor yang memengaruhi perilaku kepatuhan dalam menggunakan obat pasien DM lanjut usia (lansia) di Surabaya Timur belum diketahui secara pasti. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi profil dan faktor-faktor yang memengaruhi perilaku kepatuhan penggunaan obat pada pasien DM lansia. Penelitian ini dilakukan secara potong lintang pada 32 Karang Werda atau pos lansia di Surabaya Timur. Identifikasi tingkat kepatuhan responden dilakukan dengan kuesioner *Adherence to Refill and Medication Scale* (ARMS) sedangkan proses identifikasi faktor dilakukan dengan menggunakan sebuah kuesioner yang telah terpublikasi. Kedua kuesioner tersebut telah divalidasi pada lansia di kota Surabaya. Hasil analisis profil kepatuhan dinyatakan dalam bentuk persentase, sedangkan analisis faktor yang memengaruhi kepatuhan dilakukan dengan mencari *mean* tertinggi dari antara 14 sub-domain faktor yang terdapat di kuesioner. Total terdapat 281 lansia DM yang terlibat dalam penelitian ini. Hasil analisis menunjukkan sebanyak 67,26% responden penelitian diklasifikasikan sebagai responden yang tidak patuh. Faktor dominan yang memengaruhi perilaku patuh dalam penggunaan obat pasien DM lansia adalah dukungan sosial, faktor produk obat, tenaga kesehatan, dan faktor emosional. Intervensi yang tepat untuk mengoptimalkan penggunaan obat pasien lansia DM perlu dirancang dan diimplementasikan dengan memperhatikan faktor-faktor tersebut.

Kata kunci: Faktor kepatuhan; Diabetes mellitus; Usia lanjut; Geriatri

Abstract

Adherence with medication is one of the important factors in controlling blood glucose levels in patients with diabetes mellitus (DM), which in turn also determines the risk of diabetic complications. The profile and factors that influence adherence behaviour in the use of medication in elderly diabetic patients in Indonesia, especially in East Surabaya, are not yet known. The purpose of this study was to identify profiles and factors that influence the behavior of drug use adherence in elderly DM patients. A cross-sectional study was conducted in 32 Karang Werda or support groups for elderly in East Surabaya. Identification of the respondent's level of adherence was carried out using the Adherence to Refill and Medication Scale (ARMS) questionnaire while the contributing factors towards adherence behaviour were identified using a published questionnaire. Both questionnaires have been validated in elderly people living in Surabaya. Result of adherence profile analysis was expressed in terms of percentage while determinant factors analysis was identified by using the highest mean among 14 sub-domains included in the questionnaire. In total, 281 elderly diabetic patients were recruited in this study. It was identified that 67.26% of the respondents were classified as non-adherence patients. The dominant factors that contribute to the behavior of medication adherence in elderly diabetic patients were social support, product-related factors, health workers, and emotional factors. Appropriate interventions to optimize the use of medications in elderly diabetic patients need to be identified and implemented according to the identified contributing factors.

Keywords: Adherence factors; Diabetes mellitus; Elderly; Geriatrics

PENDAHULUAN

Jumlah penduduk usia lanjut (lansia) di dunia mengalami peningkatan tiap tahunnya seiring dengan meningkatnya kualitas layanan kesehatan dan kesejahteraan penduduk. Berdasarkan data yang dikeluarkan oleh Perserikatan Bangsa-Bangsa (PBB) tahun 2015, jumlah populasi lansia pada tahun 2015 adalah 901 juta atau sebesar 12% dari total penduduk dunia. Jumlah tersebut diperkirakan akan meningkat menjadi 1,4 milyar dan 2,1 milyar pada tahun 2030 dan 2050, secara berturut-turut.¹ Peningkatan jumlah lansia juga terjadi di Indonesia. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik dapat diketahui bahwa jumlah lansia di Indonesia pada tahun 2017 adalah sebesar 23,4 juta atau sebesar 8,97% dari total penduduk Indonesia.²

Jenis dan frekuensi gangguan kesehatan cenderung mengalami peningkatan seiring dengan pertambahan usia. Salah satu masalah kesehatan yang sering dihadapi oleh lansia, termasuk lansia di Indonesia, adalah munculnya penyakit diabetes mellitus (DM) yang dapat mengakibatkan komplikasi termasuk komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler.^{3,4} Terjadinya komplikasi dapat berkontribusi pada peningkatan dampak buruk baik di bidang klinis maupun finansial. Bukti penelitian menunjukkan adanya penurunan kualitas hidup, peningkatan risiko kematian, dan peningkatan biaya pengobatan seiring dengan munculnya komplikasi.⁵⁻⁹

Salah satu kunci untuk mencegah terjadinya komplikasi dari DM adalah menjaga agar kadar gula dalam darah terkontrol dengan baik. Kepatuhan penggunaan obat anti-diabetes, baik oral maupun insulin, merupakan salah satu kunci dalam menjaga kadar gula darah dalam rentang yang diinginkan.^{10,11} Ironisnya, beberapa bukti penelitian menunjukkan adanya ketidakpatuhan terhadap pengobatan diabetes pada lansia.^{12,13} Pada tahun 2012, terdapat lebih kurang US\$105,4 milyar anggaran kesehatan pemerintah Amerika

Serikat yang seharusnya dapat dihemat apabila tidak terdapat permasalahan terkait ketidakpatuhan.¹⁴ Dari total angka tersebut, perilaku ketidakpatuhan pada pasien DM menyumbang pemborosan anggaran negara sebesar US\$24,6 milyar.¹⁴ Potensi pemborosan anggaran kesehatan yang seharusnya dapat dicegah tersebut perlu diantisipasi pemerintah Indonesia yang telah mengimplementasikan program Jaminan Kesehatan Nasional.

Melihat besarnya dampak buruk baik secara klinis maupun finansial yang dapat terjadi akibat perilaku ketidakpatuhan serta potensi perilaku ketidakpatuhan yang cukup tinggi terjadi pada penderita DM lansia, maka diperlukan suatu intervensi yang tepat untuk mencegah maupun menangani perilaku tersebut. Terdapat beberapa jenis intervensi yang dapat diimplementasikan untuk mencegah maupun mengatasi permasalahan tersebut, antara lain: pemberian informasi obat, konseling, edukasi keluarga, *homecare*, dan pemberian *supportive care*.¹⁵ Pilihan intervensi yang sebaiknya diimplementasikan dalam suatu sistem kesehatan, baik secara nasional maupun regional, perlu disesuaikan dengan faktor yang berkontribusi terhadap perilaku ketidakpatuhan pasien. Sampai saat ini belum ada identifikasi faktor yang memengaruhi perilaku patuh dan tidak patuh menggunakan obat pada pasien DM lansia di Indonesia, khususnya kota Surabaya. Jika faktor tersebut tidak diidentifikasi, dikhawatirkan akan menghasilkan intervensi yang tidak tepat sasaran, dan apabila intervensi tersebut dijalankan dalam lingkup yang lebih luas, justru akan meningkatkan beban biaya kesehatan tanpa menyelesaikan masalah. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil dan faktor-faktor yang memengaruhi perilaku kepatuhan penggunaan obat pada pasien DM lansia.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang (*cross-sectional*) yang dilakukan di 32 Karang Werda atau pos lansia pada 16 kelurahan dari empat kecamatan yang terdapat di wilayah Surabaya Timur. Sebanyak minimum tiga lansia yang memenuhi kriteria inklusi dari setiap Karang Werda dilibatkan dalam penelitian ini. Salah satu pertimbangan dipilihnya wilayah Surabaya Timur adalah adanya keaktifan dan kesinambungan pelaksanaan program untuk penduduk lansia, termasuk program kesehatan, oleh Karang Werda di wilayah ini. Karang Werda merupakan suatu wadah yang dibentuk berdasarkan peraturan pemerintah Provinsi Jawa Timur dan pemerintah daerah Kota Surabaya dengan tujuan untuk menampung kegiatan para lanjut usia, wadah pelayanan di bidang kesehatan, sosial, budaya, ekonomi, dan agama.^{16,17} Dengan demikian, diharapkan pemilihan Karang Werda sebagai tempat penelitian dapat menjangkau lansia dengan berbagai latar belakang sosiodemografi. Selain pertimbangan tersebut, sangat diharapkan hasil penelitian ini dapat dilanjutkan dengan penyusunan program intervensi yang implementasinya di kemudian hari dapat dilaksanakan oleh dan untuk komunitas masyarakat (*community empowerment*). Penelitian dilakukan setelah mendapatkan rekomendasi/surat izin dari Badan Kesatuan Bangsa, Politik dan Perlindungan Masyarakat Kota Surabaya No. 070/9753/436.7.3/2015, dan dari Dinas Kesehatan Kota Surabaya No. 072/16842/436.6.3/2015. Selain itu, aspek etik dari penelitian ini telah dikaji dan disetujui oleh *Institutional Ethical Committee University of Surabaya* (No: 068/KE/II/2019).

Pasien dengan usia minimal 56 tahun yang menggunakan obat oral antidiabetes (OAD) minimal tiga bulan terakhir, dan menghadiri kegiatan Karang Werda/pos lansia yang telah dijadwalkan, serta bersedia mengisi *informed consent* dilibatkan sebagai responden penelitian. Peneliti menjelaskan informasi terkait penelitian termasuk tujuan penelitian dan apa yang diharapkan dari

peserta penelitian sebelum meminta tanda tangan pada Lembar Persetujuan Keterlibatan Penelitian.

Proses pengambilan sampel dilakukan bersamaan dengan kegiatan Karang Werda/pos lansia, seperti pengajian, senam, dan pemeriksaan kesehatan dari Puskesmas. Pasien yang mendapatkan terapi kombinasi OAD dengan insulin, pasien yang tidak memahami bahasa Indonesia, dan pasien yang memiliki kondisi khusus, seperti: alzheimer, stroke berat, dan fisik yang tidak memungkinkan dieksklusi dari penelitian ini. *Informed consent* dengan menggunakan “cap jari” disediakan bagi responden lansia yang tidak bisa melakukan tanda tangan.

Data yang diambil pada penelitian ini meliputi karakteristik pasien, karakteristik obat, dan kepatuhan penggunaan obat. Karakteristik pasien meliputi jenis kelamin, usia, tingkat pendidikan, pekerjaan, dan status tinggal. Data karakteristik obat meliputi nama dan jumlah macam obat yang dikonsumsi dalam sehari, tempat rutin mendapatkan obat, dan jenis antidiabetik oral yang dikonsumsi. Proses identifikasi tingkat kepatuhan responden dilakukan dengan kuesioner *Adherence to Refill and Medication Scale* (ARMS) yang telah divalidasi pada lansia di kota Surabaya.¹⁸ Pasien dikatakan patuh jika skor (*cut-off*) kuesioner ARMS sama dengan 7, dan dikatakan tidak patuh jika skor (*cut-off*) kuesioner ARMS lebih dari 7. Analisis profil kepatuhan atau ketidakpatuhan dilakukan dengan cara menghitung jumlah lansia yang teridentifikasi patuh atau tidak patuh dibagi dengan jumlah total lansia yang terlibat dalam penelitian. Hasil akhir analisis profil kepatuhan dan ketidakpatuhan dinyatakan dalam bentuk persentase.

Faktor-faktor yang memengaruhi perilaku kepatuhan penggunaan obat pada penelitian ini diidentifikasi dengan menggunakan kuesioner yang telah valid

dan reliabel.¹⁹ Total terdapat 35 pernyataan dalam kuesioner yang digunakan dalam penelitian ini dan pernyataan tersebut memetakan faktor eksternal dan faktor internal yang memengaruhi perilaku kepatuhan dalam menggunakan obat. Baik faktor internal maupun eksternal terdiri dari beberapa kategori dan sub-kategori faktor. Analisis data hasil kuesioner faktor-faktor yang memengaruhi perilaku kepatuhan dalam menggunakan obat diolah secara deskriptif dengan mencari *mean* hingga mendapatkan *domain* yang paling memengaruhi perilaku pasien lansia DM. Semakin tinggi *mean* yang didapat maka semakin besar suatu faktor memengaruhi perilaku kepatuhan pasien. Proses analisis secara statistik dilakukan dengan menggunakan *Pearson Chi-Square* (SPSS versi 20.0).

Pengisian kuesioner sebagian besar responden dalam penelitian ini dibantu oleh peneliti (AM). Oleh karena itu, kemungkinan implementasi metode pengisian kuesioner yang digunakan dalam penelitian ini secara mandiri oleh pasien lansia belum dapat dipastikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total terdapat 281 responden yang bersedia dan memberikan *informed consent* dalam penelitian ini. Hasil analisis kepatuhan dengan menggunakan kuesioner ARMS menunjukkan terdapat 92 (32,74%) responden diklasifikasikan sebagai responden patuh dan 189 (67,26%) sebagai responden tidak patuh. Detail karakteristik responden yang terlibat dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan jenis kelamin, responden dalam penelitian ini lebih banyak perempuan dibanding laki-laki. Hasil temuan dalam penelitian ini selaras dengan data yang terdapat pada Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013, bahwa prevalensi penderita DM perempuan di Indonesia lebih besar dibandingkan laki-laki.²⁰ Pasien lansia DM dalam penelitian ini lebih banyak tinggal bersama keluarga/orang lain (93,59%) dibandingkan tinggal sendiri (6,41%). Hasil penelitian ini selaras dengan

hasil penelitian yang dilakukan di negara Asia lain, yaitu: Jepang, yang menunjukkan sebanyak 80% lansia tinggal dengan keluarganya.²¹ Gambaran tempat tinggal tersebut dapat mengindikasikan tingginya budaya komunal di Asia. Pada negara dengan budaya *independence* yang tinggi, seperti di beberapa negara Eropa, didapatkan lebih sedikit lansia yang tinggal bersama dengan keluarga.²¹ Keberadaan anggota keluarga diharapkan dapat membantu pasien lansia dalam menggunakan obat, khususnya obat untuk indikasi penyakit kronis yang perlu digunakan dalam jangka waktu lama.

Persentase pasien yang patuh terhadap pengobatan berbeda secara signifikan antara kelompok pasien yang mendapatkan satu, dua, tiga, dan lebih dari tiga jenis obat ($P = 0,002$). Hasil tersebut selaras dengan hasil kajian sistematis yang menyatakan bahwa semakin banyak jumlah obat (polifarmasi) akan meningkatkan risiko ketidakpatuhan, termasuk pada lansia.²² Oleh karena itu, kompleksitas regimen pengobatan diabetes mellitus perlu diupayakan seminimal mungkin sebagai upaya untuk meningkatkan kepatuhan penggunaan obat.

Sebanyak 70,11% pasien lansia dalam penelitian ini masih dapat mengingat nama obat diabetes yang diminum (Tabel 2). Obat diabetes yang paling sering diresepkan adalah kombinasi glibenklamid dan metformin (36,55%), menyusul monoterapi glibenklamid dan monoterapi metformin masing-masing 26,40% dan 18,78%. Terapi DM yang paling banyak digunakan dalam penelitian ini tidak bertentangan dengan rekomendasi yang diberikan oleh *American Diabetes Association*²³ dan Perkumpulan Endokrinologi Indonesia.²⁴ Selain itu, terapi tersebut juga termasuk dalam daftar obat yang terdapat dalam Formularium Nasional Indonesia

sehingga obat-obat ini didapatkan secara gratis bagi peserta BPJS.²⁵ Berdasarkan hasil uji statistik deskriptif terkait faktor yang memengaruhi perilaku patuh dan tidak patuh penggunaan obat untuk keseluruhan responden (Tabel 3), ditemukan bahwa

terdapat tiga (3) faktor yang paling memengaruhi dan seluruhnya berasal dari domain eksternal yaitu: dukungan sosial (*mean* 2,700), faktor produk obat (*mean* 2,583), dan tenaga kesehatan (*mean* 2,577).

Tabel 1. Karakteristik responden penelitian dan profil kepatuhan

Karakteristik		Jumlah	Persen (%)	Patuh	Persen (%)	Tidak Patuh	Persen (%)	P-value
Jenis Kelamin	Laki-Laki	53	18,86	15	28,30	38	71,70	0,445
	Perempuan	228	81,13	77	33,77	151	66,23	
	Total	281	100	92		189		
Usia	Pra Lansia (< 60 Tahun)	97	34,52	36	37,11	61	62,89	0,522
	Lanjut Usia (60-74 Tahun)	165	58,72	50	30,30	115	69,70	
	Lanjut Usia Tua (75 Tahun keatas)	19	6,76	6	31,58	13	68,42	
	Total	281	100	92		189		
Tingkat Pendidikan	SD/Sederajat	118	42	43	36,44	75	63,56	0,504
	SMP/Sederajat	53	18,86	14	26,42	39	73,58	
	SMA/Sederajat	60	21,35	21	35,00	39	65,00	
	Perguruan Tinggi	50	17,79	14	28,00	36	72,00	
	Total	281	100	92		189		
Pekerjaan	Bekerja	51	18,15	16	31,37	35	68,63	0,818
	Tidak Bekerja	230	81,85	76	33,04	154	66,96	
	Total	281	100	92		189		
Status Tinggal	Sendiri	18	6,41	5	27,78	13	72,22	0,643
	Bersama keluarga/orang lain	263	93,59	87	33,08	176	66,92	
	Total	281	100	92		189		
Jumlah jenis obat yang dikonsumsi dalam sehari	Satu macam obat	102	36,30	20	19,61	82	80,39	0,002*
	Dua macam obat	104	37,01	40	38,46	64	61,54	
	Tiga macam obat	48	17,08	18	37,50	30	62,50	
	Lebih dari 3 macam obat	27	9,61	14	51,85	13	48,15	
	Total	281	100	92		189		
Tempat rutin mendapatkan obat 3 bulan terakhir	Puskesmas	90	32,03	26	28,89	64	71,11	0,353
	Rumah Sakit	53	18,86	21	39,62	32	60,38	
	Posyandu Lansia	18	6,41	3	16,67	15	83,33	
	Apotek Swasta	91	32,38	33	36,26	58	63,74	
	Klinik/Dokter Swasta	29	10,32	9	31,00	20	69,00	
	Total	281	100	92		189		

Keterangan:

*Berbeda secara signifikan

Tabel 2. Karakteristik obat oral antidiabetes yang digunakan partisipan

Pasien Lansia DM	Nama Obat	Jumlah	Persen (%)	
Lupa Nama Obat	-	84	29,89	
Ingat Nama Obat	Akarbose	2	1,02	
	Glibenklamid	52	26,40	
	Gliklazid	4	2,03	
	Glimeperid	13	6,60	
	Gliquidon	1	0,51	
	Metformin	37	18,78	
	Akarbose + Glibenklamid	1	0,51	
	Akarbose + Gliklazid	1	0,51	
	Akarbose + Glimeperid	1	0,51	
	Akarbose + Metformin	1	0,51	
	Glibenklamid + Metformin	72	36,55	
	Gliklazid + Metformin	2	1,02	
	Glimeperid + Metformin	8	4,06	
	Vidagliptin + Metformin	2	1,02	
		Sub Total	197	70,11
		Total	281	100

Dukungan sosial yang dimaksud dalam kuesioner yang digunakan dalam penelitian ini adalah keterlibatan orang lain, baik keluarga maupun non-keluarga, untuk mengingatkan pasien menggunakan obat.¹⁹ Faktor produk obat pada penelitian ini termasuk informasi obat yang terdapat pada label.¹⁹ Terdapat sebuah domain dari faktor internal yang cukup dominan memengaruhi perilaku kepatuhan, yaitu faktor emosional (*mean* 2,460), dan domain tersebut menduduki peringkat ke-4 penyebab faktor kepatuhan. Analisis untuk pasien yang diklasifikasikan sebagai “pasien patuh” menunjukkan faktor paling dominan memengaruhi perilaku penggunaan obat adalah faktor produk obat (*mean* 2,270) diikuti dengan faktor tenaga kesehatan (*mean* 2,250) dan fisik (*mean* 2,190). Satu dari tiga faktor utama tersebut merupakan faktor internal, yakni faktor fisik. Sedangkan hasil analisis untuk pasien yang diklasifikasikan “tidak patuh” menunjukkan faktor terbesar adalah dukungan sosial (*mean* 2,920) diikuti oleh faktor produk obat (*mean* 2,740) dan tenaga kesehatan dengan *mean* 2,730, yang ketiganya merupakan faktor eksternal. Dengan mempertimbangkan bahwa faktor

produk obat dan faktor tenaga kesehatan merupakan faktor yang memengaruhi penggunaan obat baik pada kelompok “pasien patuh” maupun “pasien tidak patuh”, maka diperlukan upaya untuk memastikan proses penyerahan obat, termasuk pemberian informasi obat, dilakukan sesuai dengan standar yang berlaku oleh petugas yang kompeten dan memiliki kewenangan menyerahkan obat.

Dari hasil perhitungan total *mean* diketahui bahwa dukungan sosial merupakan faktor tertinggi yang paling memengaruhi perilaku patuh dan tidak patuh penggunaan obat untuk responden secara keseluruhan maupun responden yang secara khusus diklasifikasikan sebagai responden yang tidak patuh. Sebagaimana dinyatakan dalam sebuah penelitian acak terkontrol, dukungan sosial, yang dalam hal ini adalah keluarga, sangat memengaruhi kepatuhan pasien DM.²⁶ Ironisnya, dalam penelitian yang dilakukan di Surabaya ini (Tabel 1), persentase pasien DM lansia patuh yang tinggal sendiri dan tinggal dengan keluarga/orang lain tidak

Tabel 3. Hasil analisis *mean* faktor yang memengaruhi perilaku patuh dan tidak patuh penggunaan obat pasien lansia diabetes mellitus

Kategori	Sub kategori	Mean		
		Seluruh responden	Responden patuh	Responden tidak patuh
Faktor <i>Internal</i>				
Faktor pasien	<i>Meal habits</i>	2,425	2,130	2,565
	<i>Belief</i> terhadap obat	2,343	2,070	2,473
	<i>Belief</i> terhadap layanan kesehatan	2,290	2,023	2,420
	<i>Belief</i> terhadap penyakit	2,315	1,975	2,475
	<i>Emotional factors</i>	2,460	2,077	2,653
	Fisik	2,353	2,190	2,433
Faktor penyakit	Komplikasi	2,205	1,925	2,345
	<i>Perceived symptoms</i>	2,255	1,980	2,390
Faktor <i>External</i>				
Layanan kesehatan	Sarana	2,263	2,057	2,363
	Tenaga kesehatan	2,577	2,250	2,730
	Produk obat	2,583	2,270	2,740
Sosial-ekonomi	Dukungan sosial ^a	2,700	2,160	2,920
	Biaya	1,955	1,820	2,025
	Budaya komunal	2,140	1,950	2,240

Keterangan

^aDalam hal ini adalah keberadaan seseorang yang mengingatkan untuk patuh menggunakan obat

berbeda secara signifikan ($P = 0.643$). Perbedaan hasil antara penelitian ini dengan hasil penelitian acak terkontrol tersebut mengindikasikan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut terkait bentuk dan intensitas dukungan yang diberikan oleh keluarga atau orang lain yang tinggal bersama dengan penderita DM lansia di wilayah Surabaya Timur. Terdapat kekhawatiran bahwa pasien DM lansia pada penelitian ini kurang mendapat dukungan secara maksimal atau mendapat dukungan dalam bentuk yang tidak sesuai dengan harapan pasien lansia. Dugaan tersebut

dibuat dengan mempertimbangkan bahwa penelitian ini dilakukan di salah satu kota terbesar di Indonesia yang sebagian besar masyarakat usia produktif memiliki tingkat kesibukan terkait pekerjaan yang cukup tinggi. Hal tersebut dapat memengaruhi ketidakefektifan pemberian dukungan kepada pasien DM lansia. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk melihat kesiapan (*readiness*) dan keinginan (*willingness*) keluarga dan masyarakat sekitar dalam mendukung pengobatan lansia.

Faktor produk obat termasuk dalam tiga faktor tertinggi yang memengaruhi perilaku patuh dan tidak patuh menggunakan obat DM baik dianalisis pada seluruh responden penelitian, atau secara lebih spesifik pada responden yang diklasifikasikan sebagai responden patuh dan tidak patuh. Selain terkait kemudahan untuk mengikuti regimen dosis obat, pertanyaan terkait produk obat yang terdapat dalam kuesioner dalam penelitian ini ditujukan untuk mengidentifikasi kemudahan dan ketersediaan informasi terkait obat bagi pasien lansia.¹⁹ Informasi terkait penggunaan obat merupakan salah satu faktor terkait produk obat yang telah terbukti mendukung kepatuhan penggunaan obat pasien.²⁷ Secara lebih spesifik, informasi terkait nama obat, waktu penggunaan, dosis, dan indikasi obat dapat meningkatkan pengetahuan pasien yang berdampak secara signifikan terhadap kepatuhan penggunaan obat.²⁸ Sayangnya, beberapa bukti penelitian dengan *setting* non-Indonesia menyatakan informasi yang tersedia pada *leaflet* obat tidak memenuhi kebutuhan pasien, khususnya pasien lansia.^{29,30} Ketidaksiharian antara informasi yang disediakan dengan kebutuhan pasien dan kesulitan untuk membaca informasi merupakan beberapa keluhan yang diutarakan terkait *leaflet* obat yang tersedia.^{29,30} Selain itu, pada umumnya, pasien tidak selalu mendapatkan *leaflet* obat karena keterbatasan jumlah *leaflet* yang tersedia per-kotak obat. Penelitian yang ditujukan untuk mengidentifikasi kebutuhan akan informasi obat pada pasien lansia di Indonesia perlu dilakukan sebagai upaya untuk menghasilkan alat bantu sumber informasi baik berupa brosur atau *leaflet* tambahan atau buku informasi kesehatan yang sesuai dengan harapan pasien lansia. Penelitian dengan *setting* Indonesia semakin menarik untuk dilakukan dengan mempertimbangkan keberagaman suku, bahasa, dan budaya yang dapat memengaruhi perbedaan kebutuhan akan informasi obat antar wilayah di Indonesia.

Faktor tenaga kesehatan juga merupakan salah satu dari tiga faktor tertinggi yang

memengaruhi perilaku patuh dan tidak patuh penggunaan obat baik pada responden secara keseluruhan maupun secara khusus pada responden yang patuh dan tidak patuh. Kemampuan tenaga kesehatan dalam memberikan pelayanan kesehatan secara lengkap serta sikap tenaga kesehatan terhadap pasien ketika memberikan informasi merupakan beberapa hal yang termasuk dalam faktor tenaga kesehatan dalam kuesioner yang digunakan dalam penelitian ini.¹⁹ Sebuah penelitian kualitatif yang dilakukan pada lansia membuktikan bahwa, pada dasarnya, lansia lebih memilih untuk mendapatkan informasi terkait obat secara verbal dibandingkan tertulis.³¹ Modig *et al.* (2012) menyatakan bahwa pasien lansia akan cenderung merasa “tidak aman” selama proses pengobatan ketika mereka tidak memperoleh informasi, baik terkait kondisi mereka maupun obat yang diterima, dari tenaga kesehatan yang memberikan pelayanan kesehatan kepada mereka.³² Hasil penelitian-penelitian tersebut semakin menegaskan pentingnya pemberian informasi yang dikomunikasikan secara verbal oleh tenaga kesehatan kepada pasien lansia. Selain kebutuhan akan komunikasi secara verbal, Robben *et al.* (2012) mengungkapkan bahwa relasi yang baik antara pasien lansia dan tenaga kesehatan merupakan faktor lain yang sangat dibutuhkan pasien.³¹ Bukti penelitian tersebut semakin menguatkan temuan hasil penelitian yang dilakukan di wilayah Surabaya Timur ini terkait pentingnya kualitas dalam memberikan layanan dan sikap tenaga kesehatan yang perhatian, termasuk ketika memberikan informasi obat, kepada pasien lansia. Ironisnya, pasien pada umumnya, termasuk pasien lansia, merasa bahwa tenaga kesehatan tidak terlalu memberikan perhatian ketika melayani pasien.³³ Beban kerja yang tinggi dapat berpotensi meningkatkan tekanan kerja tenaga kesehatan dan berdampak terhadap penurunan kualitas layanan dan

sikap yang seakan-akan “tidak ramah” terhadap pasien.³⁴ Beban kerja yang tinggi juga berpotensi dialami oleh tenaga kesehatan di Indonesia karena adanya keterbatasan jumlah dan tidak meratanya distribusi tenaga kesehatan antar provinsi.³⁵ Keterbatasan jumlah tenaga kesehatan juga merupakan salah satu masalah pada *setting* tempat penelitian dilakukan, yakni Surabaya Timur. Sebagai contoh, hanya terdapat satu apoteker pada puskesmas di Surabaya Timur yang rata-rata melayani lebih dari 60 pasien rawat jalan.

Ketiga faktor yang telah dijelaskan pada beberapa paragraf di atas merupakan faktor eksternal pasien. Jika ditinjau dari faktor internal, faktor emosional (*emotional factors*) merupakan faktor yang dominan memengaruhi perilaku patuh dan tidak patuh menggunakan obat responden secara keseluruhan dalam penelitian ini serta responden yang secara khusus diklasifikasikan tidak patuh. Perasaan lelah/bosan mengkonsumsi obat, rasa malas, serta lupa mengkonsumsi obat merupakan beberapa aspek yang ditanyakan dalam kuesioner yang digunakan dalam penelitian ini.¹⁹ Kurangnya motivasi yang positif dalam menggunakan obat merupakan salah satu permasalahan yang menyebabkan perilaku tidak patuh penggunaan obat dalam jangka panjang, khususnya pada lansia.³⁶ Hal tersebut dapat menjadi salah satu penyebab pasien menjadi bosan, malas, ataupun lupa menggunakan obat. Dalam penelitian yang dilakukan di India, Roy *et al.* (2017) secara eksplisit menyatakan bahwa faktor emosional, dalam hal ini adalah lupa, sebagai alasan utama pasien lansia tidak patuh menggunakan obat.³⁷ Implementasi metode “peringat” minum obat berupa *automatic pill dispenser* terbukti dapat meningkatkan kepatuhan penggunaan obat pada pasien lansia dengan demensia ringan.³⁸ Hasil intervensi diharapkan dapat semakin meningkat apabila implementasi metode “peringat” minum obat tersebut dikombinasikan dengan intervensi untuk meningkatkan motivasi pasien (*motivation interviewing*).³⁹ Kombinasi intervensi serupa dapat

diimplementasikan di Indonesia dengan penyesuaian alat pengingat sebagai upaya untuk mengatasi permasalahan terkait faktor emosional pasien lansia.

KESIMPULAN

Sebagian besar responden dalam penelitian ini diklasifikasikan sebagai responden lansia yang tidak patuh menggunakan obat antidiabetes oral. Tiga faktor eksternal pasien yang berhasil diidentifikasi sebagai faktor utama yang menentukan perilaku patuh dan tidak patuh adalah dukungan sosial, faktor produk obat, dan tenaga kesehatan. Faktor emosional, termasuk didalamnya adalah lupa dan malas minum obat, merupakan satu-satunya aspek dominan dari faktor internal pasien yang menentukan perilaku penggunaan obat. Intervensi yang tepat untuk mengoptimalkan penggunaan obat pasien lansia DM perlu dirancang dan diimplementasikan dengan memperhatikan faktor-faktor tersebut. Kerja sama antara pihak pemerintah, institusi pendidikan tinggi, dan organisasi kemasyarakatan diharapkan dapat mengoptimalkan penggunaan obat pada pasien lansia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Surabaya yang telah mendanai penelitian ini melalui skema Hibah Penelitian Kompetitif sehingga memungkinkan penelitian ini dapat terselenggara dengan baik.

DAFTAR RUJUKAN

1. United Nations. World Population Prospects The 2015 Revision. Key Findings and Advance Tables. Cited [2018 Agustus 10]. Available from: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/Key_Findings_WPP_2015.pdf

2. Badan Pusat Statistik. Statistik Penduduk Lanjut Usia 2017. Cited [2018 Agustus 10]. Available from: <https://www.bps.go.id/publication/2018/04/13/7a130a22aa29cc8219c5d153/statistik-penduduk-lanjut-usia-2017.html>
3. Corriere M, Rooparinesingh N, Kalyani RR. Epidemiology of diabetes and diabetes complications in the elderly: an emerging public health burden. *Current Diabetes Reports*. 2013 Dec;13(6):805-813. DOI: 10.1007/s11892-013-0425-5
4. Suastika K, Dwipayana P, Saraswati IMR, Kuswardhani T, Astika N, Putrawan IB, et al. Relationship between age and metabolic disorders in the population of Bali. *Journal of Clinical Gerontology & Geriatrics*. 2011;2:47-52.
5. Solli O, Stavem K, Kristiansen IS. Health-related quality of life in diabetes: the associations of complications with EQ-5D scores. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2010;8:18. DOI: 10.1186/1477-7525-8-18
6. Hayes A, Arima H, Woodward M, Chalmers J, Poulter N, Hamet P, et al. Changes in quality of life associated with complications of diabetes: results from the ADVANCE Study. *Value Health*. 2016;19(1):36-41.
7. Young BA, Lin E, Von Korff M, Simon G, Ciechanowski P, Ludman EJ, et al. Diabetes complications severity index and risk of mortality, hospitalization, and healthcare utilization. *The American Journal of Managed Care*. 2008;14(1):15–23.
8. Wu CX, Tan WS, Toh MP, Heng BH. Stratifying healthcare costs using the Diabetes Complication Severity Index. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2012;26(2):107-12.
9. Hazel-Fernandez L, Li Y, Nero D, Moretz C, Slabaugh L, Meah Y, et al. Relationship of diabetes complications severity to healthcare utilization and costs among Medicare Advantage beneficiaries. *The American Journal of Managed Care*. 2015;21(1):e62-70.
10. Nichols GA, Rosales AG, Kimes TM, Tunceli K, Kurtyka K, Mavros P. The change in HbA1c associated with initial adherence and subsequent change in adherence among diabetes patients newly initiating metformin therapy. *Journal of Diabetes Research*. 2016;article ID 9687815. DOI: 10.1155/2016/9687815.
11. Farmer AJ, Rodgers LR, Lonergan M, Shields B, Weedon MN, Donnelly L, et al. Adherence to oral glucose-lowering therapies and associations with 1-year HbA1c: a retrospective cohort analysis in a large primary care database. *Diabetes Care*. 2016;39(2):258-263.
12. Gautério-Abreu DP, Santos SSC, da Silva BT, Gomes GC, Cruz VD, Tier CG. Prevalence of medication therapy adherence in the elderly and related factors. *Revista Brasileira de Enfermagem*. 2016;69(2):313-320.
13. Jin H, Kim Y, Rhie SJ. Factors affecting medication adherence in elderly people. *Patient Preference and Adherence*. 2016;10:2117–2125.
14. IMS Institute for Healthcare Informatics. Avoidable cost in U.S. healthcare: the \$200 billion opportunity from using medicines more responsibly. 2013 [cited 2018 Maret 3]. Available from: http://offers.premierinc.com/rs/381-NBB-525/images/Avoidable_Costs_in%20US_Healthcare-IHII_AvoidableCosts_2013%5B1%5D.pdf
15. Nieuwlaat R, Wilczynski N, Navarro T, Hobson N, Jeffery R, Keenanasseril A, et al. Interventions for enhancing medication adherence. *The Cochrane Database of Systematic Review*. 2014 Nov 20;(11):CD000011. DOI: 10.1002/14651858.CD000011.pub4.
16. Gubernur Jawa Timur. Peraturan Gubernur Jawa Timur Nomor 31 tahun 2017 tentang Karang Werda. 2017 [cited 2018 Mei 20]. Available from: http://arsipjdih.jatimprov.go.id/upload/2179/PerGub_No._31_Thn_2017_ttg_Karang_Werda.pdf.
17. Walikota Surabaya. Peraturan Daerah Kota Surabaya Nomor 3 tahun 2014 tentang Kesejahteraan Lanjut Usia. 2014 [cited 2017 Mei 19]. Available from: https://jdih.surabaya.go.id/pdfdoc/perda_720.pdf.
18. Cahyadi H, Prayitno A, Setiawan E. Reliability and Validity of Adherence to Refill and Medication Scale (ARMS) in Indonesia Geriatric Population with Diabetes. Paper presented at “Asia-Oceania 2015 International Association of Gerontology and Geriatrics”;

- Thailand, 2015.
19. Makkulawu A, Prayitno A, Rahardjo TBW, Setiawan E. The development of a questionnaire on factors affecting non-adherence behaviour among Indonesian elderly population. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018;5(2):49-57.
 20. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Available from: <http://labdata.litbang.depkes.go.id/riset-badan-litbangkes/menu-risikesnas/menu-risikesdas/374-rkd-2013>.
 21. National Institute on Aging, National Institutes of Health. Global health and aging. 2011 [cited 2018 Mei 20]. Available from: http://www.who.int/ageing/publications/global_health.pdf
 22. Gellad WF, Grenard JL, Marcum ZA. A systematic review of barriers to medication adherence in the elderly: looking beyond cost and regimen complexity. *The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy*. 2011 Feb; 9(1):11–23.
 23. American Diabetes Association. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: standards of medical care in diabetes-2018. *Diabetes Care* 2018;41(Suppl. 1):S73–S85.
 24. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. Konsensus pengelolaan dan pencegahan diabetes mellitus tipe 2 di Indonesia. 2015 [cited 2018 July 28] Available at: <http://pbperkeni.or.id/doc/konsensus.pdf>.
 25. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/659/2017 tentang formularium nasional. 2017 [cited 2018 Juli 20]. Available from: http://e-fornas.binfar.kemkes.go.id/script/file_download/SK%20Fornas%202017.pdf.
 26. Tabasi HK, Madarshahian F, Nikoo MK, Hassanabadi M, Mahmoudirad G. Impact of family support improvement behaviors on anti diabetic medication adherence and cognition in type 2 diabetic patients. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorder*. 2014;13:113. DOI: 10.1186/s40200-014-0113-2
 27. Yap AF, Thirumoorthy T, Kwan YH. Medication adherence in the elderly. *Journal of Clinical Gerontology & Geriatrics*. 2016;7:64-67. DOI: 10.1016/j.jcgg.2015.05.001
 28. Salama AA, Yasin AER, Elbarbary W. Medication knowledge as a determinant of medication adherence in geriatric patients, Serse Elian City, Menoufia Governorate, Egypt. *Menoufia Medical Journal*. 2017;30(1):63–68.
 29. Young A, Tordoff J, Smith A. 'What do patients want?' Tailoring medicines information to meet patients' needs. *Research in Social and Administrative Pharmacy*. 2017;13(6):1186-1190.
 30. Liu F, Abdul-Hussain S, Mahboob S, Rai V, Kostrzewski A. How useful are medication patient information leaflets to older adults? A content, readability and layout analysis. *International Journal of Clinical Pharmacy*. 2014;36(4):827-34.
 31. Robben S, van Kempen J, Heinen M, Zuidema S, Olde Rikkert M, Schers H, et al. Preferences for receiving information among frail older adults and their informal caregivers: a qualitative study. *Family Practice*. 2012;29(6):742-7.
 32. Modig S, Kristensson J, Troein M, Brorsson A, Midlov P. Frail elderly patients' experiences of information on medication. A qualitative study. *BMC Geriatrics*. 2012;12:46. DOI: 10.1186/1471-2318-12-46
 33. Reader TW, Gillespie A. Patient neglect in healthcare institutions: a systematic review and conceptual model. *BMC Health Services Research*. 2013;13:156. DOI: 10.1186/1472-6963-13-156
 34. Sun N, Rau PLP. Barriers to improve physician-patient communication in a primary care setting: perspectives of Chinese physicians. *Health Psychology and Behavioral Medicine*. 2017;5(1):166-176.
 35. Badan PPSDM Kesehatan-Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Rasio tenaga kesehatan terhadap jumlah penduduk (per provinsi) per 100.000 penduduk. 2016 [cited 2018 August 12]. Available from: http://bppsdmk.kemkes.go.id/info_sdmk/info/renbut.
 36. Kocurek B. Promoting medication

- adherence in older adults and the rest of us. *Diabetes Spectrum*. 2009;22(2):80-84.
37. Roy NT, Sajith M, Bansode MP. Assessment of factors associated with low adherence to pharmacotherapy in elderly patients. *Journal of Young Pharmacist*, 2017;9(2):272-276.
38. Kamimura T, Ishiwata R, Inoue T. Medication reminder device for the elderly patients with mild cognitive impairment. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*. 2012;27(4):238-242.
39. Spoelstra SL, Schueller M, Hilton M, Ridenour K. Interventions combining motivational interviewing and cognitive behaviour to promote medication adherence: a literature review. *Journal of Clinical Nursing*. 2015;24(9-10):1163-73.

Analisis Biaya Obat Unit Rawat Jalan pada Rumah Sakit Badan Layanan Umum (BLU)/ Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) di Indonesia

Cost Analysis of Drugs in Outpatient Department at Public Service Agency District/Province Hospitals in Indonesia

Suharmiati*, Lestari Handayani, Betty Roosihermiatie

*Pusat Penelitian dan Pengembangan Humaniora dan Manajemen Kesehatan
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia
Email: atiek_2004@yahoo.com

Diterima: 14 Februari 2019

Direvisi: 08 April 2019

Disetujui: 21 Mei 2019

Abstrak

Belanja obat merupakan bagian terbesar dari anggaran pelayanan kesehatan di Indonesia. Pembiayaan pelayanan kesehatan dilakukan oleh Badan Penyelenggara Jaminan Kesehatan dibayarkan kepada fasilitas kesehatan rujukan yaitu rumah sakit. Besar biaya obat di Rumah Sakit Badan Layanan Umum (BLU)/Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) di Indonesia belum diketahui dengan pasti. Artikel ini menganalisis lanjut secara deskriptif biaya obat di 84 RS BLU/BLUD dengan sumber data dari riset pembiayaan kesehatan di RS tahun 2016. Hasil penelitian menunjukkan bahwa permasalahan ketersediaan obat di kelas B sebesar 94,6%, kelas C sebesar 78,9% dan A sebesar 77,8%. Proporsi biaya obat generik terhadap total biaya obat tertinggi di kelas C selanjutnya B dan A, berturut turut 40,57%, 37,83% dan 23,74%. Besar biaya obat non generik dibandingkan biaya obat generik pada RS Kelas A, B, dan C berturut turut adalah 2,22 kali, 1,15 kali dan 0,86 kali. Besar biaya obat generik terbanyak terdapat di Rawat jalan spesialis pada semua kelas rumah Sakit. Besar biaya obat generik pada rawat jalan semakin meningkat seiring dengan peningkatan kelas rumah sakit. Kesimpulan, biaya obat di rumah sakit A dan B didominasi obat non generik sedang di C obat generik. Kebijakan penggunaan obat generik perlu terus disosialisasi dan diperhatikan oleh pihak manajemen agar dapat melakukan efisiensi biaya.

Kata kunci : Biaya obat; Rawat jalan; Rumah Sakit; BLU/BLUD

Abstract

Drugs expenditure is the highest proportion in health services budget. financing for health services in National Universal Health Coverage era is carried out by BPJS paid to referral health facilities namely hospitals. The medicine cost at public service agency/District or Province public service agency is unknown certainly. This descriptive study was advanced analyzes of the secondary data of 84 hospitals from health financing research in the year of 2016. The result showed that there were problems of drug availability in class B 94,6%, C 78,9% and A 77,8%. The highest proportion of generic drugs cost to total drug cost is class C hospital, followed by B class and A class hospitals i.e 40,57%, 37,83% dan 23,74% respectively. The cost of non generic drug compared to generic drugs at A, B and C class is 2,22 times, 1,15 times and 0,86 times respectively. The highest cost of generic drug is in outpatient specialist services in all class of hospitals. The cost of the drugs was increasing higher as well as the hospital class. Conclusion: The non generic drugs cost dominated in A and B class hospital while C class was generic drug cost. Generic drug use policy should be socialized by government and to be considered by management in order to be able to carried out cost efficiency.

Keywords : Drug expenditure; Outpatient; Hospitals; Public service agency/ Distric or Province Public service agency

PENDAHULUAN

Rumah Sakit sebagai penyelenggara layanan kesehatan rujukan, harus menyediakan pelayanan kesehatan yang bermutu dan adil bagi masyarakat. Pelaksanaan pelayanan di RS diwadahi dalam berbagai instalasi termasuk Instalasi Farmasi yang merupakan bagian tidak terpisahkan dalam sistem pelayanan kesehatan Rumah Sakit. Instalasi farmasi menyelenggarakan pelayanan kefarmasian mencakup perencanaan, pengadaan, produksi, penyimpanan, perbekalan kesehatan/sediaan farmasi, *dispensing* obat berdasarkan resep bagi penderita rawat jalan dan rawat inap, pengendalian mutu, pengendalian distribusi dan penggunaan seluruh perbekalan kesehatan di rumah sakit serta pelayanan farmasi klinik umum dan spesialis.

Masalah biaya pelayanan merupakan hal yang sangat penting sehingga mendorong seluruh elemen yang berkepentingan menghitung secara riil besarnya biaya pelayanan yang dibutuhkan. Belanja obat merupakan bagian terbesar dari biaya kesehatan.¹

Biaya obat di negara berkembang lebih besar dibandingkan beberapa negara maju, yaitu antara 25-65% sedangkan di negara maju hanya sekitar 10-20% dari anggaran kesehatan, seperti di Jerman 15% dan Jepang 19%. Biaya obat di Indonesia mencapai 40-50% dari biaya operasional kesehatan dan terus menunjukkan peningkatan setiap tahunnya. Pemerintah berupaya mengendalikan biaya obat dengan menerbitkan berbagai peraturan terkait. Salah satu cara pemerintah untuk mengantisipasi besarnya biaya obat tersebut dengan mengeluarkan Permenkes No. HK 02.02/Menkes/068/I/2010 pasal 8, tentang kewajiban menggunakan obat generik di fasilitas pelayanan kesehatan milik pemerintah. Berdasarkan Permenkes tersebut ada 3 unsur utama yang berperan yaitu

tenaga medis (dokter), tenaga farmasis (apoteker) dan pasien.²

Pemerintah mulai memberlakukan program Jaminan Kesehatan Nasional (JKN) pada tahun 2014 yang menjamin peserta mendapat pelayanan kesehatan secara memadai termasuk obat. Biaya pelayanan obat yang diberikan kepada pasien termasuk dalam paket kapitasi dan paket INA CBG's. Obat yang diberikan kepada pasien harus mengacu pada Peraturan Presiden (PP) Nomor 111 tahun 2013, pasal 32 yakni obat-obatan yang diberikan mengacu daftar dan harga obat yang ditetapkan oleh menteri kesehatan. Daftar obat dicantumkan dalam Formularium Nasional (Fornas) sedangkan penetapan daftar harga obat (e-Katalog Obat) dilakukan kementerian kesehatan bekerjasama dengan lembaga kebijakan pengadaan barang/jasa pemerintah (LKPP).³ Pengaturan pembayaran juga tertuang dalam Peraturan Presiden Nomor 12 tahun 2013, pasal 39 yang menyatakan bahwa BPJS Kesehatan melakukan pembayaran kepada Fasilitas Kesehatan Tingkat Pertama (FKTP) secara praupaya berdasarkan kapitasi, sedangkan pembayaran kepada Fasilitas Kesehatan Rujukan Tingkat Lanjutan (FKRTL) berdasarkan *Indonesia Case Base Groups* (INA CBG's).⁴

Obat-obatan yang diberikan dalam pelayanan telah diatur di fasilitas pelayanan termasuk dalam paket kapitasi atau INA CBG's. Merujuk pada Permenkes Nomor 28 Tahun 2014, pemberian obat tertentu di luar Fornas tidak boleh dibebankan kepada peserta.⁵ Pelayanan obat di era JKN mengalami perubahan yaitu ada beberapa obat yang ditagihkan terpisah oleh fasilitas kesehatan kepada BPJS karena obat-obatan tersebut di luar paket kapitasi, seperti obat Program Rujuk Balik dan Obat di luar paket INA CBG's yaitu obat-obatan untuk penyakit kronis di FKRTL dan kemoterapi.⁶ Pengendalian biaya kesehatan khususnya obat di era JKN antara lain adalah dengan

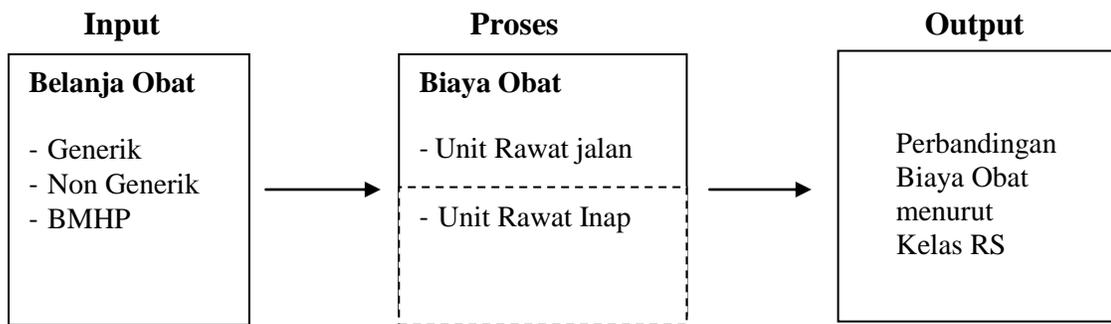
membuat pedoman persepean. Kementerian Kesehatan, khususnya Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan menyusun Fornas sebagai acuan dalam pemilihan obat untuk menjamin ketersediaan, keterjangkauan dan aksesibilitas obat. Penelitian di RSUP Prof Kandou di Kota Manado dalam bulan Januari sampai dengan Juni 2014 menunjukkan sebanyak 72,82% penulisan resep dengan nama generik dan 91,87% kesesuaian dengan Fornas. Persepean yang sepenuhnya menggunakan nama generik dan sesuai Fornas rata-rata sebesar 33,21%.⁷ Penulisan resep obat generik oleh dokter di rumah sakit masing-masing sebesar 62,1% untuk dewasa dan 62,6% untuk anak-anak. Penulisan resep obat esensial masing-masing sebesar 32,6% untuk pasien dewasa dan 35,2% untuk pasien anak baik obat generik maupun yang bermerek.⁸

Hasil penelitian Pembiayaan Kesehatan tahun 2016 menunjukkan bahwa BPJS harus menanggung biaya pelayanan pengobatan yakni rawat inap sebesar 61,13% dan rawat jalan sebesar 62,03% dibandingkan sumber pembiayaan yang lain seperti Jamkesda ataupun asuransi lainnya. Lebih separoh RS pernah mengalami masalah dalam pengadaan obat, yaitu sebanyak 52,4%, sedangkan 57,1% terkait ketersediaan bahan medis, dan 32,1% ketersediaan bahan non medis dengan berbagai macam penyebab.⁹ Masalah pembiayaan obat menjadi fokus

perhatian karena besarnya proporsi yang harus dikeluarkan untuk biaya obat di rumah sakit. Rawat jalan mengambil bagian besar dalam penggunaan obat di era JKN, namun belum diketahui secara pasti besar pembiayaan obat di Unit Rawat Jalan Rumah Sakit, khususnya RS BLU/BLUD di Indonesia. Penelitian ini menganalisis biaya obat di Unit Rawat Jalan Rumah Sakit BLU/BLUD di Indonesia berdasar data Penelitian Pembiayaan Kesehatan tahun 2016.

METODE

Penelitian ini merupakan analisis lanjut dari data sekunder Riset Pembiayaan Kesehatan Fasilitas Kesehatan Rujukan Tingkat Lanjut (FKTRL) tahun 2016. Berdasar kerangka konsep (Gambar 1) dilakukan analisis terhadap sistem manajemen untuk biaya obat pada RS BLU/BLUD di Indonesia. Determinan input adalah obat generik, obat non generik, dan Bahan Media Habis Pakai (BMHP); proses adalah Biaya obat pada Unit Rawat jalan; dan output adalah perbandingan biaya obat (obat generik, obat non generik dan bahan medis habis pakai) menurut kelas Rumah Sakit. Data biaya obat diperoleh dari Bagian Keuangan Rumah Sakit yang berasal dari Instalasi Farmasi meliputi obat generik, obat non generik dan BMHP.



Gambar 1. Kerangka Konsep Analisis Biaya Obat di Unit Rawat Jalan RS BLU/BLUD

Kebutuhan irisan data diperoleh dari Laboratorium Manajemen Data Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Kegiatan analisis sampai dengan penulisan laporan dilakukan pada bulan Nopember sampai dengan Desember tahun 2017. Riset Pembiayaan Kesehatan FKTRL tahun 2016 merupakan penelitian observasional dengan desain potong lintang di RS umum pemerintah Badan Layanan Umum (BLU) dan Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) yang telah ditetapkan sejak tahun 2013. Jumlah RS BLU/BLUD adalah 241 unit merupakan populasi penelitian.

Sampel RS dihitung berdasarkan Rumus Slovin dengan batas toleransi kesalahan (e) sebesar 10%, maka diperoleh sampel (n) sebesar 71 yang merupakan kebutuhan sampel minimal RS.¹⁰ Sampel ditambah sebesar 10% sehingga kebutuhan jumlah sampel dibulatkan menjadi 84 RS. Keterwakilan nasional dilakukan dengan mengambil sebaran sampel sesuai dengan sebaran populasi berdasarkan kelas RS dan regionalisasi INA-CBGs. Sampel penelitian ditentukan untuk mewakili 5 regional tarif INA-CBGs (Tabel 1). Dasar penentuan regionalisasi digunakan Indeks Harga Konsumen (IHK) dari Badan Pusat Statistik (BPS). Pemilihan sampel 84 RS terpilih dilakukan secara acak dengan bantuan *Software Minitab* ditetapkan bersama

dengan perhitungan statistik yang bekerjasama dengan BPS.(Tabel1) Besar sampel RS menggunakan Rumus Slovin, yaitu

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

Keterangan : n = jumlah sampel; N = jumlah populasi; e = batas toleransi kesalahan

Rumah Sakit menurut tipe perawatan terbagi menjadi unit rawat jalan dan rawat inap disamping Unit Gawat Darurat (UGD). Unit Gawat Darurat (UGD) adalah salah satu bagian pada RS yang menyediakan penanganan awal bagi pasien yang menderita sakit dan cedera, yang dapat mengancam kelangsungan hidupnya. Unit Gawat Darurat (UGD) merupakan bagian dari rangkaian pelayanan yang perlu diorganisir. Tidak semua Rumah Sakit harus mempunyai bagian gawat darurat yang lengkap dengan tenaga memadai dan peralatan canggih karena menyebabkan pengeluaran dana dan sarana yang besar. Data biaya obat diperoleh dari Bagian Keuangan Rumah Sakit yang berasal dari Instalasi Farmasi meliputi obat generik, obat non generik serta BMHP dan dimintakan secara terpisah untuk ketiga jenis obat tersebut. Analisis data secara deskriptif.

Tabel 1. Distribusi Sampel RS Pemerintah (A, B, C, D) BLU/BLUD berdasarkan Regionalisasi INA-CBGs

Kelas RS	Regionalisasi INA-CBGs					Total (n)
	I	II	III	IV	V	
A	3	2	2	1	1	9
B	19	5	8	2	2	36
C	12	9	9	2	4	36
D	1	2	-	-	-	3
Total	35	18	19	5	7	84

Tabel 2. Persentase Rumah Sakit yang Mengalami Permasalahan Ketersediaan Obat dan Frekuensinya dalam Satu Tahun Terakhir menurut Kelas RS, RPK 2016

Kelas RS	RS yang mengalami Permasalahan (%)	Frekuensi (%)			
		Setiap hari	Paling sedikit sekali seminggu	Paling sedikit sekali sebulan	Tidak setiap bulan
A (n=9)	77,8	0,0	28,6	28,6	42,9
B (n=37)	94,6	11,4	5,7	22,9	60,0
C (n=38)	78,9	3,3	23,3	23,3	50,0

Sumber: Data Riset Pembiayaan Kesehatan tahun 2016

Tabel 3. Biaya Obat Berdasarkan Jenis Obat dan Kelas RS BLU/BLUD di Indonesia tahun 2016

RS	Obat Generik (%)	Obat Non Generik (%)	Bahan Habis Pakai (%)	Total (%)
Klas A (n=9)	361.230.365.246 (23,74)	803.333.381.823 (52,79)	357.154.349.587 (23,47)	1.521.718.096.656 (100,00)
Klas B (n=37)	331.245.891.086 (37,83)	382.556.792.457 (43,70)	161.700.750.690 (18,47)	875.503.434.233 (100,00)
Klas C (n=38)	166.444.697.617 (40,57)	143.542.402.044 (34,99)	100.231.159.537 (24,43)	410.218.249.198 (100,00)
Total	813.920.953.949 (29,46)	1.329.432.576.324 (48,12)	619.086.259.814 (22,41)	2.762.439.790.087 (100,00)

Sumber: Diolah dari data Riset Pembiayaan Kesehatan Tahun 2016

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Permasalahan biaya obat di RS BLU/BLUD

Obat merupakan kebutuhan esensial dalam pelayanan kesehatan di RS. Kelancaran pelayanan tergantung ketersediaan obat, kekurangan jumlah atau jenis obat serta pasokan yang tidak lancar dapat mengganggu pelayanan dan menimbulkan ketidakpuasan pasien maupun petugas kesehatan. Berikut ini adalah kondisi permasalahan ketersediaan obat di RS berdasar data penelitian RPK 2016 (Tabel 2).

Tabel 2 di atas memberikan gambaran bahwa permasalahan ketersediaan obat terbanyak terjadi di kelas B (94,6%) disusul kelas C (78,9%) dan A (77,8%). Ketersediaan obat menjadi masalah yang

terjadi di semua kelas RS bahkan terjadi setiap hari di RS kelas B dan C. Ketersediaan, keterjangkauan dan pembiayaan obat ditekankan dalam Kebijakan Obat Nasional tahun 2005 yang menyatakan bahwa perencanaan obat sangat mempengaruhi kelancaran dalam manajemen logistik. Ketersediaan obat di era JKN semakin mengemuka permasalahannya karena jumlah kunjungan pelayanan yang meningkat. Perencanaan yang baik akan membantu ketersediaan obat sehingga kelancaran pelayanan kesehatan juga semakin terjamin. Penelitian di RS Cikampek Jawa Barat menunjukkan bahwa dengan menggunakan metode ABC Indeks Kritis dapat membantu RS merencanakan pemakaian obat dengan mempertimbangkan utilisasi, nilai investasi dan kekritisannya. Penelitian ini menyatakan pentingnya

standar terapi sebagai acuan bagi dokter karena akan mempengaruhi perencanaan.¹¹ Sementara penelitian lain menyebutkan bahwa faktor yang mempengaruhi ketersediaan obat adalah faktor dokter, faktor tenaga kefarmasian dan pasien.¹²

Mengetahui beban biaya obat di Rumah Sakit sangat penting bagi pihak manajemen karena merupakan bagian dari pengelolaan pelayanan. Rumah Sakit sebagai institusi pelayanan kesehatan menyelenggarakan pelayanan kesehatan perorangan secara paripurna yang menyediakan pelayanan rawat inap, rawat jalan, dan gawat darurat pada semua tipe RS. Rumah Sakit sebagai Badan Layanan Umum (BLU) dan Badan Layanan Umum Daerah (BLUD) dituntut untuk memberikan pelayanan kesehatan kepada masyarakat berupa penyediaan barang dan atau jasa tanpa mengutamakan mencari keuntungan dan dalam melakukan kegiatannya didasarkan pada prinsip efisiensi dan produktivitas. Rumah Sakit BLU berdasar Peraturan Pemerintah (PP) No. 23 tahun 2005 tentang Pengelolaan Keuangan Badan Layanan Umum (BLU) adalah sebagaimana yang diamanatkan dalam Pasal 69 ayat (7) UU No. 1 Tahun 2004 tentang Perbendaharaan Negara. Peraturan Pemerintah tersebut bertujuan untuk meningkatkan pelayanan publik oleh Pemerintah, karena sebelumnya tidak ada pengaturan yang spesifik mengenai unit pemerintahan yang melakukan pelayanan kepada masyarakat yang pada saat itu bentuk dan modelnya beraneka macam.^{13,14}

2. Rata-rata Beban Biaya Obat di 84 RS Sampel Penelitian

Biaya obat yang dimaksud dalam penelitian ini adalah biaya yang digunakan untuk membayar kebutuhan obat generik dan non generik serta bahan medis habis pakai (BMHP) di semua unit baik Rawat Jalan maupun Rawat Inap dan Unit Gawat Darurat (UGD). Obat Non Generik adalah

Obat yang masuk dalam golongan obat paten dan obat bermerek. Bahan medis habis pakai adalah Barang atau bahan yang ditujukan untuk penggunaan sekali pakai dengan daftar produk yang diatur dalam peraturan perundang-undangan.

Penekanan pemerintah agar RS menggunakan obat generik terkait dengan efisiensi biaya. Biaya obat generik yang lebih murah akan membantu menekan pembiayaan obat dalam pelayanan kesehatan. BPJS mengelola pembiayaan pelayanan kesehatan bagi peserta JKN yang terus meningkat jumlah pembiayaannya. Faktor yang mempengaruhi biaya obat adalah usia, penjamin, jumlah item obat dan penggunaan obat generik.¹⁵ Efisiensi biaya obat akan terjadi bila obat generik menjadi obat utama dalam penyelenggaraan pelayanan kesehatan. Harga obat generik 30-60% lebih murah dibandingkan obat bermerek atau paten.¹⁶ Hasil penelitian ini didukung penelitian oleh Ramesh (2013) yang menyatakan persentase harga obat bermerk 20 % - 218 % lebih mahal dibanding obat generik.¹⁷ Bukti penelitian tersebut bisa sebagai gambaran pengaruh jumlah dan jenis penggunaan obat generik terhadap besar biaya obat di RS. Temuan dalam analisis ini memberikan gambaran bahwa besar biaya obat non generik 2,22 kali dibandingkan biaya obat generik pada RS Kelas A, sedangkan di RS kelas B 1,15 kali dan RS kelas C 0,86 kali.

Biaya Obat Berdasarkan Kelas Rumah Sakit yaitu Kelas A, B dan C disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3 di atas dapat dilihat bahwa proporsi obat generik tertinggi di kelas C selanjutnya B dan A berturut turut dengan proporsi 40,57%, 37,83% dan 23,74%. Proporsi biaya Obat non generik tertinggi terdapat di RS kelas A, disusul kelas B dan kelas C dengan besaran berturut turut 52,79%, 43,70% dan 34,99%. Proporsi biaya BHPM tertinggi terdapat pada RS kelas C disusul kelas A dan B. Secara

keseluruhan proporsi biaya obat tertinggi banyak digunakan untuk pembiayaan obat non generik (48,12%) disusul obat generik sebanyak 29,46% dan terakhir untuk biaya BMHP 22,41%.

Obat generik merupakan obat yang disarankan untuk digunakan dalam pelayanan di RS. Merujuk pada proporsi penggunaan obat generik meningkat pada kelas rumah sakit yang terbanyak pada RS kelas C, sebaliknya pada obat non generik yang terbanyak di kelas A. Kelas rumah sakit menunjukkan kemampuan penanganan penyakit dengan rujukan tertinggi pada kelas A. Kasus penyakit yang tidak dapat ditangani RS kelas C akan dirujuk ke RS kelas B dan selanjutnya ke RS kelas A. RS Kelas A adalah RS yang memberikan pelayanan medik oleh tenaga kedokteran spesialis dan subspesialis luas, serta merupakan RS tempat rujukan tertinggi dan pada umumnya merupakan RS pendidikan. RS Kelas B adalah RS yang menyediakan pelayanan medik spesialis luas serta subspesialis terbatas. Rumah Sakit Kelas B ini diharapkan bisa menampung pasien rujukan dari RS tingkat kabupaten. Rumah Sakit Kelas C adalah RS yang mampu memberikan layanan kedokteran subspesialis terbatas.

Pelayanan yang diberikan identik dengan jenis obat yang dibutuhkan. Semakin tinggi kelas RS akan menangani kasus dengan tingkat keparahan semakin tinggi. Kasus-kasus penyakit pada RS kelas A lebih parah dari kasus kelas B sedang kasus di RS kelas B lebih parah daripada kasus di RS kelas C. Semakin parah kasus, kemungkinan membutuhkan jenis obat yang berbeda dan bervariasi dengan tingkat potensi yang lebih kuat. Ada kemungkinan obat generik untuk penanganan kasus sulit/parah tidak tersedia sehingga harus menggunakan obat non generik. Jenis pelayanan (spesialis dan sub

spesialis) semakin tinggi maka obat yang digunakan adalah obat paten dan atau obat bermerek yang dinilai lebih poten untuk kasus tertentu.

Proporsi penggunaan biaya obat generik pada RS BLU/BLUD di Indonesia antara 23,74 - 40,57%. Hasil ini berbeda bila dibandingkan dengan persentase persepan obat generik dan non generik. Penulisan resep obat generik pada RSUD Pemerintah Prof. Kandou Manado rata-rata sebesar 33,21 persen.⁷ Demikian pula penelitian di salah satu Rumah Sakit di Kabupaten Sidoarjo menunjukkan bahwa penggunaan obat generik sebesar 31,36% dan obat bermerek 68,64%.¹⁸ Pada 7314 lembar resep dari 3 poli penyakit dalam, bedah dan umum, menunjukkan bahwa persentase penggunaan obat generik pelayanan rawat jalan RS pemerintah Provinsi Sumatra barat sebesar 72,4%.¹⁹ Penelitian di RS Loekmono Hadi Kudus menghasilkan data bahwa persepan antibiotik oral sebesar 98,70% menggunakan obat generik, namun tidak semua golongan obat yang diresepkan.²⁰ Penelitian lain menunjukkan bahwa persepan obat generik dan obat paten memiliki kesempatan yang sama untuk diresepkan oleh dokter. Antara kelompok dokter, tidak ada perbedaan dalam perilaku dapat dijelaskan dalam resep Obat.²¹

Rata-rata biaya obat dikelompokkan menurut jenisnya yaitu obat generik, obat non generik dan Bahan Medis Habis Pakai (BMHP) berdasar kelas RS yaitu Kelas A, B dan C. Data tentang biaya obat disajikan pada Tabel 4. Penelitian ini mendata pembiayaan obat generik, non generik dan BMHP di 9 RS kelas A, 37 RS kelas B dan 38 RS kelas C. Bila mewakili Indonesia maka dapat dikatakan bahwa beban biaya obat generik secara rata-rata di tahun 2016 terbesar terdapat di RS kelas A.

Tabel 4. Rata-rata Biaya Obat Berdasarkan Jenis Obat dan Kelas RS BLU/BLUD di Indonesia tahun 2016

Jenis Obat	Kelas RS					
	Kelas A (n=9)		Kelas B (n=37)		Kelas C (n=38)	
	Rata2(Rp)	±SD	Rata2(Rp)	±SD	Rata2(Rp)	±SD
Obat Generik	40.136.707.250	50.857.685.530	9.201.274.752	8.769.053.392	4.498.505.341	4.462.106.399
Non Generik	89.259.264.647	81.349.278.022	10.626.577.568	8.280.583.241	3.879.524.380	4.281.811.164
BMHP	39.683.816.621	22.861.122.858	4.491.687.519	4.149.236.903	2.708.950.258	2.257.561.168

Sumber: Riset Pembiayaan Kesehatan Tahun 2016

Rata-rata biaya obat generik di RS semakin tinggi kelas semakin besar biayanya. Rata-rata biaya obat generik pada RS Kelas A sebesar Rp. 40.136.707.250,- atau 8,9 kali dibandingkan (Rp. 4.498.505.341) RS Kelas C. Biaya rata-rata biaya obat generik pada RS Kelas B sebesar Rp. 9.201.274.752,- atau 2,0 kali dibandingkan (Rp. 4.498.505.341) pada RS Kelas C, sedangkan rata rata biaya obat generik pada RS Kelas A dibanding pada RS Kelas B sebesar 4,5 kali. Rata rata biaya bahan medis habis pakai semakin rendah dengan menurunnya kelas RS. Rata-rata biaya bahan medis habis pakai pada RS Kelas A sebesar Rp. 39.683.816.621 atau 14,6 kali dibandingkan (Rp.2.708.950.258) RS kelas C. Biaya rata-rata biaya bahan habis pakai pada RS Kelas B sebesar Rp. 4.491.687.519 atau 1,7 kali dibandingkan (Rp. 2.708.950.258) pada RS Kelas C.

Beban biaya obat generik ternyata jauh dibawah obat non generik untuk kelas A yaitu sebesar 89,2 milyar yang berarti 2 kali lipat biaya obat generik. Kondisi di RS kelas B berbeda karena pembiayaan obat non generik hanya sedikit berbeda dengan obat generik, sedangkan di RS kelas C biaya obat non generik lebih sedikit daripada obat generik. Rata-rata biaya obat di RS kelas A terbanyak diantara 3 kelas RS yaitu mencapai Rp. 169 milyar. Biaya obat tersebut bila diteliti lebih jauh pada rumah sakit kelas A, B, dan C tertinggi terletak pada unit yang sama yakni Instalasi Bedah Sentral.⁹

Bukti penelitian menunjukkan bahwa penggunaan obat generik masih dibawah harapan. Upaya pemerintah mempromosikan

obat generik didukung dengan peraturan yang telah diterbitkan yaitu Permenkes No. HK 02.02/Menkes/068/I/2010 pasal 8, tentang kewajiban menggunakan obat generik di fasilitas pelayanan kesehatan milik pemerintah untuk penggunaan obat yang bermutu, aman, berkhasiat dan terjangkau; Kepmenkes HK 03.01/Menkes/159/1/2010 tentang Pedoman Pembinaan dan Pengawasan Penggunaan Obat Generik di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Pemerintah, serta kebijakan lain yang menetapkan formularium Jaminan Kesehatan Masyarakat (Jamkesmas) berbasis obat generik.²² Pemerintah telah menjamin kualitas obat generik dengan biaya yang lebih murah dibandingkan obat paten. Hasil penelitian Lewek,2010 menunjukkan kualitas obat generik akan sama dengan obat bermerk karena baik pabrik obat generik atau pabrik obat bermerk diharuskan memenuhi persyaratan yang sama baik secara kimia kontrol pabrik maupun proses yang lain.²³ Pada kenyataannya dalam peresepan obat generik dipengaruhi banyak faktor. Faktor yang berpengaruh terhadap peresepan obat generik karena pemahaman dan kepercayaan terhadap obat generik. Ada pengaruh pasien dan detailer dalam meresepkan obat generik, namun pengaruhnya rendah.¹⁹

Penggunaan obat generik dapat berjalan lancar apabila ketersediaan obat tercukupi dan adanya dukungan berbagai kebijakan. Ketersediaan obat generik pada Instalasi Farmasi kabupaten/kota di Indonesia pada tahun 2010 menunjukkan kecukupan dalam 14,2 bulan, sedangkan penggunaan obat generik pada tahun 2010 tersebut pada

puskesmas mencapai lebih dari 95% lebih dan pada RS 57,8%.²⁴ Permenkes No. HK 02.02/Menkes/068/I/2010 pasal 8, Kepmenkes HK 03.01/Menkes/159/1/2010, dan kebijakan lain yang menetapkan formularium Jaminan Kesehatan Masyarakat (Jamkesmas) berbasis obat generik meningkatkan sosialisasi penggunaan obat generik, baik kepada dokter yang merawat maupun kepada pasiennya sendiri. Di samping itu, Peraturan Pemerintah Nomor 51 Tahun 2009 tentang Pekerjaan Kefarmasian pada pasal 24 disebutkan bahwa pasien yang tidak mampu diberikan obat paten dapat diganti dengan obat generik yang khasiatnya sama atas persetujuan dokter dan/atau pasien.^{2,20} Upaya pemerintah menggalakkan penggunaan obat generik semakin diperkuat dengan adanya peraturan Menkes HK.02.02/Menkes/068/I/2010 pada pasal 7 yang mengizinkan apoteker dapat mengganti obat merek dagang/paten dengan obat generik yang sama komponen aktifnya dengan persetujuan dokter dan atau pasien.

Biaya obat, terutama non generik masih merupakan komponen terbesar dalam struktur pembiayaan pelayanan kesehatan di Indonesia. Maka pengendalian biaya obat untuk penggunaan obat generik akan meningkatkan efisiensi pembiayaan pelayanan kesehatan karena harga obat nama dagang 3 sampai 5 kali lebih mahal daripada obat generik.²⁵ Sejalan kebijakan rasionalisasi obat generik tahun 2010, terdapat penurunan harga dari 106 jenis obat generik sedangkan yang tetap harganya sebanyak 314 jenis. Ada pula sebagian obat yang harganya naik yakni sebanyak 33 jenis obat dan salah satunya obat suntik. Kenaikan harga obat terjadi karena proses pembuatannya tidak memungkinkan dengan harga murah. Studi telaah resep untuk efisiensi biaya obat dan intervensi apoteker dalam pelayanan farmasi menunjukkan penggantian obat dengan substitusi generik

atau nama dagang sesuai dengan formularium Fornas menempati urutan kedua (34,70%) setelah pembatasan jumlah obat yang mengacu pada tingkat penyakit sebanyak 61,53 persen.²⁶

Penggunaan obat generik juga dipengaruhi oleh pengguna atau pasien. Studi pemilihan obat generik di Desa Masaran, Kabupaten Sragen terhadap 119 orang menunjukkan hubungan negatif antara penghasilan dengan pemilihan masyarakat terhadap obat generik atau bila penghasilan menurun maka pemilihan obat generik akan meningkat.²⁷ Penelitian sebelumnya menunjukkan pemakaian Obat Generik Berlogo (OGB) di Indonesia sekitar 12% pada tahun 2001 dan menurun menjadi 7,8% pada tahun 2007 walaupun pasar obat nasional naik. Penggunaan Obat Generik Berlogo relatif rendah. Tampaknya program OGB kurang sukses karena relatif rendahnya kepercayaan masyarakat terhadap mutu OGB. Kajian peresepan obat pada apotik di wilayah Pariaman, mendapatkan dari total 2384 lembar resep terdiri dari 1198 resep OGB dan 1186 resep Obat Generik Bermerek (OGM). Penggunaan OGB relatif seimbang dengan OGM dan pada dasarnya mutu OGB dan OGM adalah sama.²⁸ Diharapkan masyarakat memilih obat dengan mempertimbangkan aspek ekonomi karena Obat Generik Bermerek relatif lebih mahal dibandingkan dengan Obat Generik Berlogo.

Pemerintah melalui Peraturan Menteri Keuangan nomor 241/PMK.011/2010 menetapkan sistem klasifikasi barang dan pembebanan tarif bea masuk atas barang impor (bea impor dan 10% PPN) sehingga pembuatan obat generik dapat mengurangi harga obat.²⁹ Permasalahan di negara berkembang terdapat di masyarakat termasuk dokter, mereka masih awam terhadap penggunaan obat generik.

3. Biaya obat di Unit Rawat Jalan Menurut Kelas Rumah Sakit

Unit Rawat Jalan (RJ) terbagi menjadi regular/umum dan spesialis/sub spesialis adalah unit pelayanan kesehatan sesuai yang diatur dalam Permenkes R.I Nomor 11 Tahun 2016. Rumah sakit kelas A dan B pada umumnya selain memiliki unit rawat jalan umum juga rawat jalan spesialis/sub spesialis. Rawat Jalan Eksekutif/Spesialis adalah salah satu bagian pada RS yang memberikan pelayanan kesehatan melalui pelayanan dokter spesialis-subspesialis dalam satu fasilitas ruangan terpadu secara khusus tanpa menginap pada RS dengan sarana dan prasarana di atas standar diatur dalam Permenkes R.I No 11 tahun 2016.³⁰ Beberapa RS memberi istilah dengan rawat jalan eksekutif yaitu pelayanan rawat jalan spesialis dengan fasilitas ruangan yang lebih baik dan lebih nyaman.

Rata-rata biaya obat di unit rawat jalan berdasarkan jenis obat di RS BLU/BLUD Kelas A, B dan C di Indonesia tahun 2016 disajikan pada Tabel 5. Biaya obat generik di unit Rawat jalan RS Kelas A, terbesar pada rawat jalan spesialis yaitu Rp. 6.225.472.514,- sedangkan yang paling sedikit pada Rawat jalan eksekutif yaitu Rp.

1.541.542.369,-. Hal tersebut kemungkinan banyak pasien yang berobat atau rujukan ke rawat jalan spesialis dari peserta asuransi kesehatan karena kelas RS yang tinggi memiliki pelayanan subspecialistik yang luas. Biaya obat non generik terbesar pada Rawat Jalan (RJ) umum yaitu Rp. 24.496.153.254,- sedangkan yang paling sedikit pada Rawat Jalan (RJ) eksekutif yaitu Rp. 954.848.555,-. Hal ini kemungkinan karena pasien yang berobat ke RJ umum adalah pasien umum yang membayar untuk mendapatkan pelayanan paling murah namun paling banyak jumlahnya. Pengeluaran untuk biaya BMHP terbesar di UGD yaitu Rp. 5.512.281.954, - sedangkan pada Rawat jalan eksekutif yaitu Rp. 358.823.485,-. UGD merupakan tempat melakukan pertolongan pertama dan gawat darurat sehingga banyak melakukan tindakan yang banyak menggunakan bahan medis habis pakai. Prosentase rata-rata penggunaan obat generik dibanding non generik di masing-masing unit rawat jalan tertinggi di UGD obat generik 44,4%, Rawat Jalan Umum 10,1% dan Rawat Jalan Spesialis 32,1% dan Rawat Jalan Eksekutif 61,8% .

Tabel 5. Rata-rata Biaya Obat di Unit Rawat Jalan Berdasarkan Jenis Obat dan Kelas RS BLU/BLUD di Indonesia tahun 2016

RS Kelas A	Rata-rata Biaya Obat					
	Jenis Obat					
	Obat Generik		Obat Non Generik		Bahan Medis Habis Pakai	
	Rata2(Rp)	±SD	Rata2(Rp)	±SD	Rata2(Rp)	±SD
UGD	2.364.858.955	2.188.751.768	2.963.960.949	2.253.827.749	5.512.281.954	5.389.192.408
RJ Umum	2.741.545.804	2.562.171.538	24.496.153.254	31.841.568.269	2.569.032.280	3.537.680.483
RJ Spesialis	6.225.472.514	10.067.198.152	13.139.976.044	26.586.141.743	547.475.661	616.029.890
RJ Eksekutif	1.541.542.369	2.421.447.824	954.848.555	823.200.469	358.823.485	559.718.410
RS Kelas B						
UGD	874.899.584	1.158.699.994	785.206.718	707.300.936	533.700.845	1.418.794.437
RJ Umum	539.038.021	711.614.940	691.398.809	868.041.366	293.481.695	615.056.687
RJ Spesialis	1.764.639.811	2.287.821.897	2.118.869.598	2.173.194.863	518.453.371	797.826.473
RJ Eksekutif	180.888.961	213.233.140	483.349.941	354.166.376	13.415.748	11.716.348
RS Kelas C						
UGD	474.965.359	692.038.127	426.880.364	981.255.744	360.181.171	713.071.598
RJ Umum	289.097.036	1.096.082.697	116.569.524	411.400.393	63.911.317	149.101.379
RJ Spesialis	836.770.340	1.000.820.913	871.159.657	1.165.644.312	360.580.673	569.606.821
RJ Eksekutif	1.558.837	-	2.472.638	-	1.343.825	-

Sumber: Riset Pembiayaan Kesehatan Tahun 2016

Biaya obat generik di unit Rawat jalan RS Kelas B terbesar pada Rawat Jalan Spesialis yaitu Rp. 1.764.639.811,- ; sebagaimana untuk biaya obat non generik yaitu sebesar Rp. 2.118.869.598,- karena yang berobat ke rawat jalan spesialis kemungkinan adalah pasien rujukan peserta asuransi kesehatan. Sedangkan yang paling sedikit untuk biaya obat generik pada Rawat jalan eksekutif sebesar Rp. 180.888.961,- ; sebagaimana untuk biaya non generik dan bahan medis habis pakai masing-masing sebesar Rp. 483.349.941,- dan Rp.13.415.748,- karena kemungkinan jumlah pasien sedikit karena biaya yang dibayar oleh pasien relatif mahal. Biaya bahan medis habis pakai terbanyak pada UGD, sebesar Rp. 533.700.845,- kemungkinan karena di UGD banyak dilakukan tindakan termasuk untuk kedaruratan sehingga banyak menggunakan bahan medis habis pakai, sedangkan yang paling sedikit di unit Rawat jalan eksekutif karena jumlah pasien yang memerlukan tindakan relatif sedikit. Rata-rata prosentase penggunaan obat generik dan non generik di masing-masing unit rawat jalan maka di UGD obat generik 52,7% dan obat non generik 47,3%; Rawat jalan Umum obat generik 43,8% dan obat non generik 56,2% ; Rawat jalan Spesialis obat generik 45,4% dan obat non generik 54,6%, sedangkan pada Rawat Jalan Eksekutif obat generik 27,2% dan obat non generik 72,8%.

Biaya obat generik terbesar di unit Rawat jalan RS Kelas C pada Rawat Jalan spesialis yaitu Rp 836.770.340,- ; demikian obat non generik yaitu Rp. 871.159.657,-. karena yang berobat ke rawat jalan spesialis kemungkinan adalah pasien rujukan peserta asuransi kesehatan atau karena pasien yang berkunjung ke RS baik A, B atau C untuk mencari pengobatan lanjutan (spesialistik) baik dari FKTP maupun dari kelas RS secara berjenjang. Sedangkan untuk obat generik yang paling sedikit pada Rawat jalan

eksekutif yaitu Rp. 1.558.837,- ; demikian obat non generik yaitu sebesar Rp. 116.569.524,- kemungkinan karena jumlah pasien yang berobat ke rawat jalan eksekutif paling sedikit.

Biaya bahan medis habis pakai terbesar pada Rawat Jalan spesialis yaitu sebesar Rp. 360.580.673,-, sedangkan paling sedikit pada Rawat jalan eksekutif yaitu sebesar Rp. 1.343.825,-. Menurut prosentasenya, rata-rata penggunaan obat generik dan non generik di masing-masing unit rawat jalan yaitu di UGD obat generik 52,7% dan obat non generik 47,3%; Rawat jalan Umum obat generik 71,3% dan obat non generik 28,7% ; Rawat jalan Spesialis obat generik 49,0% dan obat non generik 51,0%, sedangkan pada Rawat Jalan Eksekutif obat generik 38,7% dan obat non generik 61,3%.

Sebagai fasilitas rujukan dari pelayanan primer, di unit rawat jalan yaitu rawat jalan spesialis penggunaan obat generik di semua kelas rumah sakit tertinggi dibandingkan unit lainnya (UGD, rawat jalan umum maupun rawat jalan spesialis) tampaknya dokter telah meresepkan obat generik tersebut sesuai Permenkes No. HK 02.02/Menkes/068/I/2010 pasal 8, tentang kewajiban menggunakan obat generik di fasilitas pelayanan kesehatan milik pemerintah, kemungkinan pasien rujukan terutama adalah pasien yang memiliki asuransi kesehatan. Penggunaan obat generik dan non generik yang paling sedikit pada rawat jalan eksekutif kemungkinan karena jumlah pasiennya sedikit.

Biaya obat menurut jenisnya, yaitu obat generik untuk Rawat Jalan yang terbanyak adalah di Rawat Jalan spesialis pada semua kelas Rumah Sakit. Besar biaya obat generik pada rawat jalan tersebut semakin meningkat dengan meningkatnya kelas Rumah Sakit. Sebagai pelayanan rujukan, pada rawat jalan terutama rawat jalan spesialis maka dokter meresepkan obat generik sesuai kewajiban menggunakan obat generik di fasilitas

pelayanan kesehatan milik Pemerintah, kemungkinan pasien rujukan terutama adalah pasien yang memiliki asuransi kesehatan.

Biaya obat non generik di unit rawat jalan, pada RS kelas A yang terbanyak rawat jalan umum kemungkinan banyak kasus dan sebagai rujukan tertinggi kemungkinan derajat penyakit ditangani berat walaupun pada rawat jalan umum sehingga memerlukan obat non generik. Sedangkan pada RS kelas B dan C adalah rawat jalan spesialis kemungkinan derajat penyakit ditangani pada fasilitas rujukan cukup berat sehingga memerlukan obat non generik.

KESIMPULAN

Biaya obat di rumah sakit menentukan kelancaran pelayanan di RS karena mengambil porsi yang cukup besar dalam pelayanan kesehatan. Penelitian ini membuktikan bahwa hampir semua RS kelas A, B dan C mengalami masalah ketersediaan obat. Obat generik diwajibkan digunakan dalam pelayanan kesehatan dalam rangka efisiensi biaya, namun pada kenyataannya obat non generik menjadi beban tertinggi dalam pembiayaan obat di RS kelas A. Beban tertinggi untuk obat generik ada di rawat jalan RS kelas C.

Rata-rata biaya obat non generik di RS Kelas A, tertinggi pada unit rawat jalan umum, sedangkan untuk RS Kelas B dan C rata-rata biaya obat non generik tertinggi pada rawat jalan spesialis. Penelitian ini membuktikan bahwa efisiensi biaya pelayanan kesehatan melalui penggunaan obat generik masih belum sesuai harapan karena proporsi biaya rawat jalan masih didominasi obat non generik.

SARAN

Perlu terus meningkatkan sosialisasi tentang obat generik, baik kepada dokter tentang kewajiban penggunaan obat generik maupun kepada masyarakat bahwa khasiat

obat generik adalah sama dengan obat bermerek. Pihak manajemen RS perlu mengetahui kecenderungan pembiayaan obat agar bisa dilakukan perencanaan yang lebih baik khususnya penggunaan obat generik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Humaniora dan Manajemen Kesehatan yang memberi kesempatan untuk melakukan analisis lanjut data Riset Pembiayaan FKRTL tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Options for financing and optimizing medicines in resource-poor countries. Geneva: WHO; 2010.
2. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor HK.02.02/Menkes/068/I/2010 tentang Kewajiban Menggunakan Obat Generik di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Pemerintah. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2010.
3. Republik Indonesia. Peraturan Presiden Nomor 111 Tahun 2013 tentang Perubahan atas Peraturan Presiden Nomor 12 Tahun 2013 tentang Jaminan Kesehatan. Jakarta: Sekretariat Negara; 2013.
4. Republik Indonesia. Peraturan Presiden Nomor 12 Tahun 2013 tentang Jaminan Kesehatan. Jakarta: Sekretariat Negara; 2013.
5. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 28 Tahun 2014 tentang Pedoman Pelaksanaan Program Jaminan Kesehatan Nasional. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2014.
6. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 59 tahun 2014 tentang Standar Tarif Pelayanan Kesehatan dalam Penyelenggaraan Program Jaminan Kesehatan. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2014.
7. Tanner AE, Ranti L, Lolo WA. Evaluasi pelaksanaan pelayanan resep obat generik pada pasien BPJS rawat jalan di RSUP

- Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Pharmacon*. 2015;4(4):58–64.
8. Siahaan S. Analisis ketersediaan dan pola persepan obat di Rumah Sakit pemerintah di Indonesia. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. 2013;16(4):373–9.
 9. Handayani L. Riset pembiayaan kesehatan di Fasilitas Kesehatan Rujukan Tingkat Lanjut (FKRTL) pada tahun 2016 (studi di RS Badan Layanan Umum/Badan Layanan Umum Daerah). Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Humaniora dan Manajemen Kesehatan; 2016.
 10. Sevilla CG, Jesus AO, Twila GP, Bella PR, Gabriel GU. *An introduction to research methods*. Manila: Rex Printing Company; 1992. Diunduh dari: <https://www.worldcat.org/title/introduction-to-research-methods/oclc/16899541>.
 11. Suciati S, Wiku BBA. Analisis perencanaan obat berdasarkan ABC indeks kritis di instalasi farmasi. *Jurnal Manajemen Pelayanan Kesehatan*. 2006;9(1):19-26.
 12. Prabowo P, Satibi, Gunawan PW. Analisis faktor-faktor yang mempengaruhi ketersediaan obat di era JKN pada Rumah Sakit Umum Daerah. *Jurnal Manajemen Pelayanan Farmasi*. 2016;6(3):213-6.
 13. Republik Indonesia. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 23 Tahun 2005 tentang Pengelolaan Keuangan Badan Layanan Umum. Jakarta: Sekretariat Negara; 2005.
 14. Republik Indonesia. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 1 Tahun 2004 tentang Perbendaharaan Negara.
 15. Hadiningsih H. Analisis besaran biaya obat beberapa penyakit rawat jalan dan faktor-faktor yang mempengaruhi di RS Awal Bros Bekasi tahun 2014. *Jurnal Administrasi Rumah Sakit*. 2015;2(1):53-61.
 16. Zarowitz BJ, Semla T. Avoiding potential pitfalls of generic substitution. *Geriatry Nurs*. 2009;30(4):206-3.
 17. Ramesh L. Economic evaluation of antibiotic prescriptions : a cost minimization analysis. *J App Pharm Sci*. 2013;3(6):160-3.
 18. Agustin D. Profil penggunaan obat generik pada pasien hipertensi rawat inap rumah sakit X di Sepanjang Sidoarjo [skripsi]. Sidoarjo; 2009.
 19. Sukpti, Dwiyanti D. Peresepan obat generik dan faktor-faktor yang mempengaruhinya pada instalasi rawat jalan rumah sakit pemerintah di provinsi Sumatera Barat. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2011;5(1):21-7.
 20. Sari VM, Pratiwi Y. Prosentase pelaksanaan obat antibiotik oral sesuai dengan formularium rumah sakit pada pasien BPJS rawat jalan di RSUD Dr. Loekmono Hadi Kudus. *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*. 2016;1(5):33-42.
 21. Hartono S, Sumarwan U, Suharjo HB. Analisis marketing pharmaceutical dalam keputusan dokter meresepkan kategori obat. *Jurnal Manajemen*. 2014;18(2):191-205.
 22. Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.03.01/Menkes/159/I/2010 tentang Pedoman Pembinaan dan Pengawasan Penggunaan Obat Generik di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Pemerintah Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2010.
 23. Lewek P, Przemyslaw K. Generik drugs: the benefits and risks of making the switch. *The Journal of Family Practice*. 2010;59(11):634.
 24. Kemenkes RI. Utamakan obat yang bermutu, aman, berkhasiat dan terjangkau. Jakarta: Puskom Publik; 2010.
 25. Djamaludin M. Kebijakan manajemen farmasi. Jakarta: Badan POM RI; 2001.
 26. Gunawan CA, Firman P, Irma R. Analisis efisiensi biaya obat setelah dilakukan telaah resep dan intervensi apoteker dalam pelayanan farmasi pasien JKN rawat jalan di RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta. *Proceeding Health Architecture*; 2017 Mei 17; 2017.
 27. Natalia M. Pengaruh tingkat penghasilan konsumen terhadap pemilihan obat generik di desa Masaran kabupaten Sragen [tugas akhir D3]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta; 2013.
 28. Sofyan, Fadli S. Kajian pola persepan dan harga obat generik di apotek dalam wilayah

- kota Pariaman. Prosiding Rakernas dan Pertemuan Ilmiah. Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia; 2016.
29. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Keuangan No. 241/PMK.011/2010 tentang Perubahan Keempat Atas Peraturan Menteri Keuangan Nomor 110/PMK.010/2006 tentang Penetapan Sistem Klasifikasi Barang dan Pembebanan Tarif Bea Masuk Atas Barang Impor. Jakarta: Kementerian Keuangan; 2010.
 30. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 11 Tahun 2016 tentang Penyelenggaraan Pelayanan Rawat Jalan Eksekutif di Rumah Sakit. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2016.

Efek Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak, Buah Takokak, dan Umbi Bidara Upas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7

Cytotoxic Effect of Jamu Formula of Sirsak Leaves, Takokak Fruits, and Bidara Upas Bulb against Breast Cancer Cell Line MCF-7

Yuli Widiyastuti*, Ika Yanti M. Sholikhah, Sari Haryanti

Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia

*Email: ywidiyasis@gmail.com

Diterima: 28 Desember 2018

Direvisi: 8 Maret 2019

Disetujui: 1 Juli 2019

Abstrak

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian utama di dunia. Pengobatan kanker yang sangat rumit dan berbiaya tinggi mendorong masyarakat untuk mencari pengobatan alternatif dengan menggunakan tumbuhan obat. Beberapa tumbuhan obat yang secara empiris diklaim memiliki khasiat sebagai antikanker adalah sirsak (*Annona muricata*), takokak (*Solanum torvum*), dan bidara upas (*Merremia mammosa*). Ramuan tumbuhan obat tersebut belum pernah diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker MCF-7. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas sitotoksik formula jamu antikanker yang terdiri dari 3 jenis tumbuhan tersebut. Pengaruh ekstrak tunggal dan formula campuran ketiga jenis ekstrak tanaman obat tersebut diuji aktivitasnya terhadap viabilitas sel MCF-7 dengan metode MTT assay. Selanjutnya, formula jamu dengan kombinasi ekstrak tanaman obat yang paling aktif diuji aktivitasnya terhadap ekspresi protein Bcl-2 dengan metode imunositokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tunggal maupun formula ekstrak campuran daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas memberikan efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Formula A berupa campuran daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan 1:1:1 memberikan hasil penghambatan viabilitas sel MCF-7 tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 48 $\mu\text{g/ml}$. Formula tersebut juga meningkatkan proses apoptosis pada sel MCF-7 yang ditunjukkan melalui penurunan ekspresi protein antiapoptosis Bcl-2.

Kata kunci: Umbi bidara upas; Daun sirsak; Buah takokak; Apoptosis; MCF-7

Abstract

Cancer is one of the leading cause of death in the world. Complicated and high cost treatments of cancer encourages people to look for alternative treatments among others using medicinal plants. Some medicinal plants that are empirically claimed to have anticancer effect are soursop (*Annona muricata*), takokak (*Solanum torvum*), and bidara upas (*Merremia mammosa*). However, these medicinal herbs have not been tested for cytotoxic activity against MCF-7 cancer cells. The purpose of this study was to determine the cytotoxic activity of the anticancer herbal formula consisting those three plants. The effect of each single extract and the combination formula were tested for their activity on cell viability of MCF-7 with MTT assay method. The herbal formula with the most active combination of medicinal plant extracts was further tested for its activity on the expression of Bcl-2 protein by immunocytochemistry methods. The results showed that each single extract and the combination formula gave cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cells. Formula A, consisted of a mixture of soursop leaves, takokak fruit, and bidas upas bulb with a ratio of 1:1:1, results in highest inhibition of the viability of MCF-7 cells with IC_{50} values of 48 $\mu\text{g/ml}$. The formula also enhances the apoptosis process in MCF-7 cells which is shown by decreasing the expression of antiapoptotic Bcl-2 proteins.

Keywords: Sirsak leaves; Takokak fruit; Bidara upas bulb; Apoptosis; MCF-7

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit seluler yang bersifat laten dan diawali dengan suatu proses karsinogenesis. Proses terjadinya kanker dapat berlangsung sampai puluhan tahun. Karsinogenesis atau proses terjadinya kanker dari sel normal, terbagi dalam beberapa tahap yaitu inisiasi, promosi, konversi, dan progresi. Tiga tahap pertama terjadi dari sel normal yang berubah menjadi sel kanker, dan tahap terakhir terjadi setelah sel kanker terbentuk.¹ Karsinogenesis diawali dengan proses inisiasi pada sel oleh senyawa karsinogenik dan dengan adanya agen pemacu pertumbuhan (promoter), baik intra maupun ekstra seluler, sel akan membentuk massa tumor (fase promosi). Jika pada fase promosi ini perubahan genetik berlangsung terus, pertumbuhan sel semakin tidak terkontrol (fase progresi).² Sel kanker bersifat agresif dan memiliki kemampuan invasif (menyusup dan merusak jaringan di dekatnya) dan metastasis (menyebarkan ke jaringan lainnya melalui sistem pembuluh darah dan limpa) sehingga karena patogenesis tersebut maka kanker dinyatakan juga sebagai penyakit seluler.³

Prevalensi penyakit kanker di dunia cenderung semakin meningkat. Pada tahun 2012 diperkirakan terdapat 14 juta kasus kanker baru, dengan 8 juta di antaranya berakhir pada kematian.⁴ Laporan tersebut juga menyebutkan jumlah kasus kanker di dunia akan meningkat 2 kali lipat dalam 30 tahun terakhir, dan jika tidak dilakukan penanganan yang tepat akan meningkat 2 kali lipat pada tahun 2020, dan meningkat 3 kali lipat pada tahun 2030.⁵

Pengembangan terapi yang komprehensif untuk mengatasi kanker sangat diperlukan untuk menekan jumlah kematian penderita. Pengembangan terapi ini diharapkan juga mampu mengatasi resistensi terhadap agen kemoterapi konvensional yang telah ada saat ini.⁵ Pengembangan obat kanker baru dari tanaman obat sebagai agen kemoterapi

terus berjalan. Di seluruh dunia banyak hasil penelitian telah dipublikasi di berbagai jurnal tentang upaya pencarian senyawa aktif baru yang memiliki potensi sebagai agen kemoterapi.

Tanaman sejak dahulu merupakan sumber obat bagi berbagai tujuan pengobatan dan pemeliharaan kesehatan termasuk untuk penanganan kanker.⁶ Dalam 30 tahun terakhir telah ditemukan dan dilansir sebanyak 236 kandidat senyawa aktif (*New Chemicals Entities*, NCEs) sebagai obat kanker dan hampir 80% di antaranya merupakan senyawa bahan alam, termasuk tumbuhan obat. Vinkristin dan vinblastine merupakan contoh senyawa dari tumbuhan obat yang digunakan untuk pengobatan kanker darah. Beberapa senyawa antikanker baru yang kemudian menyusul dikembangkan antara lain kamptothekin dari tanaman *Camptotheca acuminata* dan phodopilotoksin (*Phodophyllum peltatum*), termasuk sejumlah senyawa semisintesis dan turunannya, yaitu topotekan, irridotekan, docetaxel, cabizetaxel, etoposide, dan teniposide.⁷

Kecenderungan masyarakat dalam menggunakan pengobatan tradisional untuk mengatasi kanker dan tumor secara mandiri tersebut umumnya berdasarkan informasi yang diperoleh melalui media massa. Berbagai tanaman obat Indonesia seperti sirsak, takokak, bidara upas, keladi tikus, benalu, dan duri tujuh merupakan sebagian dari tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan kanker dan tumor oleh berbagai etnis.⁸ Sebagian masyarakat yang merasakan manfaat pengobatan kanker dan tumor dengan tanaman obat tersebut banyak yang memberikan testimoni di media massa sehingga akhirnya memengaruhi masyarakat dalam memilih cara pengobatan kanker dan tumor.

Penggunaan tumbuhan obat untuk upaya mandiri dalam mengatasi dan mengobati kanker perlu memperoleh dukungan informasi ilmiah. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk beberapa

tumbuhan yang secara empiris dinyatakan berkhasiat sebagai antikanker. Daun sirsak telah diketahui mengandung senyawa acetogenin yang secara *in vitro* mampu menghambat proliferasi kanker payudara.⁹ Pada penelitian lain, takokak (*Solanum torvum*) dinyatakan memiliki efek sitotoksik terhadap sel EAC dengan IC₅₀ di bawah 200 µg/mL.¹⁰ Sementara itu, tanaman bidara upas (*Merremia mammosa*) yang mengandung senyawa bersifat oksidase dari getah umbinya kemungkinan memiliki aktivitas antikanker sehingga mendukung penggunaan empiris sebagai obat tradisional untuk tumor payudara.¹¹

Kajian awal penapisan potensi sitotoksik untuk antikanker secara *in vitro* lebih sering dilakukan terhadap ekstrak tumbuhan secara tunggal, padahal penggunaan jamu antikanker sering dalam bentuk formula berupa kombinasi beberapa jenis tumbuhan obat. Untuk itu, uji aktivitas formula jamu antikanker yang berupa campuran beberapa tumbuhan obat perlu dilakukan untuk menetapkan ramuan paling potensial yang akan dikembangkan. Penelitian ini mengkaji aktivitas sitotoksik formula daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas pada sel kanker payudara MCF-7.

METODE

Bahan dari masing-masing bagian tanaman yang terdiri dari daun sirsak, umbi bidara upas, dan buah takokak dipotong dan dicuci bersih kemudian dikeringkan, selanjutnya bahan diserbuk dengan blender dan diayak dengan ukuran 20 mesh. Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 50 g, dimasukkan dalam panci infusa, ditambah 500 ml akuades dan dibuat sediaan infusa. Infusa kemudian disaring dan dikeringkan di oven sehingga didapatkan ekstrak kering.

Sel kanker payudara MCF-7 diperoleh dari ATCC (*American Type Culture Collection*) USA. Perbanyakan sel kanker dilakukan dengan cara mencairkan stok *cell line* dari *cryogenic storage*, kemudian

dipindahkan ke dalam *conical tube* 15 mL, ditambahkan media sampai 10 mL, dan selanjutnya dipisahkan menggunakan *centrifuge* pada 1000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pelet dihentakkan dengan jari supaya lepas kemudian ditambahkan media kultur dan dituang dalam *culture flask*. Sel diinkubasi pada 37 °C dalam inkubator CO₂ 5% dan jika sel sudah konfluen maka sel siap digunakan (dipanen).

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT *assay*. Seratus mikro liter suspensi yang berisi *cell line* dalam media kultur *Eagle's Minimum Essential Media* (EMEM) dengan kepadatan 8.000 sel dimasukkan ke dalam masing-masing 96-*well plate*, dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator CO₂ 5% sampai konfluen. Sel diberi perlakuan ekstrak tunggal dan formula ekstrak dengan konsentrasi 10, 20, 40, 80, dan 160 µg/ml sebanyak 3 ulangan, ditambah kontrol sel dan kontrol media. *Microplate* diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator CO₂ 5%. Pengamatan dan dokumentasi dilakukan pada akhir perlakuan. Selanjutnya, media kultur dibuang dan dicuci dengan *phosphate buffered saline* (PBS), ditambahkan 110 µl larutan [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazoli-um bromide] (MTT) ke dalam setiap *well* dan diinkubasikan pada inkubator CO₂ 5% suhu 37 °C. Setelah 4 jam, ditambahkan 100 µl *stopper* berupa larutan *sodium dodecyl sulphate* (SDS) 10% dalam HCl 0,1 N ke dalam setiap *well* untuk melarutkan kristal formazan. Absorbansi dibaca dengan *microplate reader* pada λ 595 nm setelah dibiarkan dalam suhu kamar semalam.¹²

Analisis hasil absorbansi digunakan untuk menghitung % kematian dan viabilitas sel dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ mati} = \frac{(a - b) - (c - b)}{(a - b)} \times 100\%$$

$$\% \text{hidup (viabilitas)} = \frac{(c - b)}{(a - b)} \times 100\%$$

Keterangan:

a = absorbansi kontrol sel

b = absorbansi kontrol media

c = absorbansi sampel

Pengamatan ekspresi protein Bcl-2 dilakukan dengan metode imunositokimia. Sel MCF-7 (kepadatan 5×10^4 sel/well) ditanam pada *coverslip* dalam 24-well plate sampai 80% konfluen. Well plate diinkubasikan dengan ekstrak air formula ekstrak selama 18 jam. Medium diambil, dicuci dengan PBS. Cover slip yang memuat sel diangkat, diletakkan di dalam 6 well plate. Preparat difiksasi dengan metanol dingin. Preparat dicuci dengan PBS, kemudian ditetesi dengan hidrogen peroxidase blocking solution selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian dibuang. Preparat diinkubasi dengan prediluted blocking serum selama 10 menit pada suhu kamar, lalu dibuang. Selanjutnya, preparat ditetesi dengan primer antibodi monoklonal anti Bcl-2 pengenceran 1:50 selama 24 jam pada suhu 40 °C. Pada akhir inkubasi, preparat dicuci dengan PBS selama 5 menit, kemudian diinkubasi dengan biotinylated universal secondary antibody selama 10 menit dan dicuci dengan PBS selama 5 menit. Preparat diinkubasi dalam streptavidin-peroxidase complex reagent selama 10 menit dan dicuci dengan PBS selama 5 menit. Selanjutnya, preparat diinkubasi dalam substrate solution DAB selama 10 menit lalu dicuci dengan akuades. Preparat direndam dalam pewarna Mayer's hematoxylin selama 3 menit dan dicuci dengan akuades, lalu dicelupkan dalam alkohol, dibersihkan, dicelupkan dalam xylol, kemudian ditetesi dengan mounting media dan ditutup cover slip. Ekspresi protein diamati di bawah mikroskop cahaya perbesaran 100 kali.¹³

Untuk analisis statistik, data absorbansi perlakuan ekstrak terhadap sel MCF-7 di

setiap well dengan 3 kali ulangan dikonversikan menjadi rerata % viabilitas sel, kemudian dianalisis dengan regresi linier untuk memperoleh nilai IC₅₀. Data kualitatif hasil imunositokimia disemikuantitatifkan menggunakan metode Allred Score.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas sitotoksik ekstrak tanaman tunggal terhadap sel MCF-7

Pada uji aktivitas ekstrak tanaman obat tunggal terhadap sel MCF-7, daun sirsak memberikan pengaruh sitotoksik paling kuat dengan nilai IC₅₀ paling rendah sebesar 56,61 µg/mL. Persentase viabilitas sel dari perlakuan masing-masing ekstrak tanaman obat secara tunggal disajikan pada Tabel 1.

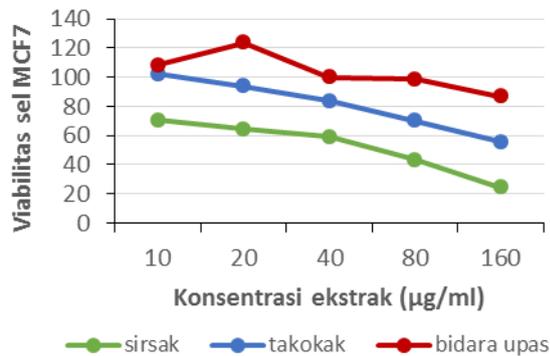
Tabel 1. Persentase viabilitas sel MCF-7 setelah perlakuan ekstrak air daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas

Jenis ekstrak	Konsentrasi (mg/ml)					IC50 (mg/ml)
	10	20	40	80	160	
Sirsak	70,59	64,4	59,2	43,4	24,2	56,6
Takokak	102,3	93,7	83,7	70,2	55,4	85,7
Bidara upas	108,1	123,5	100	98,4	86,9	101,2

Viabilitas sel karena pengaruh ekstrak air tunggal masing-masing dari daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas diamati dengan metode MTT. Penentuan potensi sitotoksik menggunakan parameter kadar sampel uji yang dapat menghambat pertumbuhan sel sampai 50% (IC₅₀). Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa hasil uji sitotoksikitas ekstrak air daun sirsak, buah takokak, dan bidara upas pada sel MCF-7 diperoleh nilai IC₅₀ berturut turut 56,61 µg/mL, 85,75 µg/mL, dan 101,26 µg/mL. Masing-masing perlakuan ekstrak tanaman obat secara tunggal menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi dan efek sitotoksik yang dihasilkan. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan semakin meningkat efek sitotoksiknya (Gambar 1).

Dalam pengembangan obat baru termasuk untuk antikanker, salah satu pendekatan yang paling efisien adalah melalui eksplorasi etnofarmakologi.⁵ Hal ini dibuktikan dalam penelitian awal melalui uji sitotoksitas, sebagian spesies tanaman obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tumor atau kanker, memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel kanker bahkan ada yang mematikan sel kanker. Penggunaan tanaman obat dan herbal untuk komplemen terapi kanker payudara telah sering dilaporkan.¹⁴

Pada penelitian sebelumnya, ekstrak etanol daun sirsak terbukti memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara T47D dengan IC_{50} sebesar 17,149 $\mu\text{g/ml}$.¹⁵ Senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antikanker dalam daun sirsak adalah acetogenin.¹⁶



Gambar 1. Rata-rata viabilitas sel MCF-7 dari pengaruh ekstrak air daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas

Panigrahi *et al.* (2014) menyebutkan bahwa ekstrak etanolik buah takokak (*Solanum torvum*) memiliki efek sitotoksik kuat terhadap pertumbuhan sel Ehrlich's Ascites Carcinoma (EAC).¹⁷ Buah takokak termasuk ke dalam famili Solanaceae yang memiliki kandungan senyawa aktif antara lain steroidal sapogenin yang memiliki berbagai aktifitas farmakologi.⁹ Selain takokak, buah dari *Solanum nigrum* (ranti) juga punya aktivitas sitotoksik pada sel

HeLa.¹⁸ Berdasarkan morfologi serta viabilitas sel, masing-masing perlakuan dari ekstrak tanaman tunggal menunjukkan adanya efek sitotoksik yang ditandai dengan perubahan morfologi dan peningkatan jumlah kematian sel. Nilai viabilitas sel MCF7 akibat perlakuan ekstrak uji disajikan pada Gambar 1.

Uji aktivitas formula ekstrak terhadap sel MCF-7

Berdasarkan hasil uji viabilitas sel MCF-7 atas perlakuan ekstrak tunggal daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas, dilakukan penentuan viabilitas sel MCF-7 dari perlakuan kombinasi campuran ekstrak 3 tanaman tersebut. Kombinasi susunan formula disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kombinasi susunan formula ekstrak air daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas untuk uji viabilitas sel MCF-7

Jenis ekstrak	Komposisi		
	Formula A	Formula B	Formula C
Sirsak	1	1	1
Takokak	1	1	2
Bidara upas	1	2	1

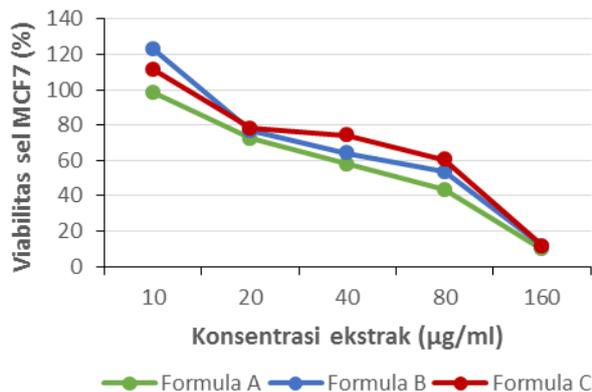
Penetapan proporsi jenis ekstrak dalam menyusun formula (A, B dan C) mengacu pada nilai IC_{50} dari uji sitotoksik masing-masing tanaman obat. Daun sirsak dengan nilai IC_{50} terendah menjadi bagian penyusun utama dengan proporsi sama untuk setiap formula, kemudian untuk umbi bidara upas diberikan 2 bagian pada formula B sedangkan buah takokak 2 bagian pada formula C. Masing-masing formula diuji terhadap viabilitas sel MCF-7 dengan metode MTT *assay* dengan hasil sebagai mana tercantum pada Tabel 3.

Dari hasil MTT *assay* diketahui bahwa formula daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan masing-masing ekstrak 1:1:1 memberikan hasil penghambatan viabilitas sel MCF-7

terbesar (IC₅₀ terkecil) sebesar 48,89 µg/mL. Pengaruh konsentrasi formula terhadap viabilitas sel MCF-7 disajikan pada Gambar 2. Efek formula daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas berlaku tergantung dosis (*dose dependent manner*), yaitu semakin tinggi dosis formula yang diberikan maka semakin menurun viabilitas sel MCF-7.

Tabel 3. Persentase viabilitas sel MCF7 setelah perlakuan ekstrak air formula jamu

Jenis ekstrak	Konsentrasi (µg/ml)					IC ₅₀ (µg/ml)
	10	20	40	80	160	
Formula A	98,3	72,3	57,8	43,2	9,5	48,8
Formula B	123,1	76,8	63,9	53,6	11,6	59,2
Formula C	111,6	78,3	74,2	60,5	11,6	69,2

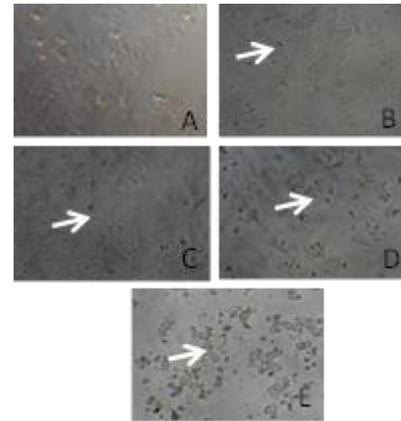


Gambar 2. Efek formula daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas terhadap viabilitas sel MCF-7 dengan waktu inkubasi selama 24 jam

Perlakuan formula ekstrak pada sel MCF-7 berpengaruh terhadap morfologi dan viabilitas sel yang ditunjukkan dengan bentuk sel yang semakin membulat, membesar, dan akhirnya mati. Efek perlakuan ekstrak formula daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas mulai terlihat pada konsentrasi 40 µg/mL. Kematian sel tertinggi terjadi pada konsentrasi 160 µg/mL. Hasil observasi perubahan morfologi sel ditampilkan pada Gambar 3.

Uji dilakukan dengan menginkubasi 5×10³ sel MCF-7 dengan ekstrak formula

A (20-160 µg/ml) selama 48 Jam. Perubahan morfologi terlihat pada konsentrasi 20 µg/ml (B), 40 µg/ml (C), 80 µg/ml (D) dan 160 µg/ml (E) dibandingkan dengan kontrol (A) dengan perbesaran 100 kali. Tanda anak panah menunjukkan morfologi sel yang mengalami kematian.



Gambar 3. Morfologi sel MCF-7 akibat perlakuan formula A

Pada Gambar 3 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi formula A yaitu campuran daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan 1:1:1, maka akan semakin besar perubahan morfologi dan kematian sel. Pada konsentrasi 40 µg/mL mulai terjadi pembesaran sel (*giant cell*), dan pada konsentrasi 80 dan 160 µg/mL telah terjadi kematian sel.

Dari hasil uji viabilitas perlakuan kombinasi ekstrak daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas, diperoleh hasil bahwa formula A dengan perbandingan 1:1:1 memberikan nilai IC₅₀ paling kecil yang berarti formula tersebut paling toksik. Dibandingkan dengan pemberian ekstrak tunggal, ekstrak formula A memberikan efek penghambatan viabilitas sel MCF-7 lebih tinggi yang ditandai dengan nilai IC₅₀ lebih rendah yaitu 48,89 µg/ml. Peningkatan efek toksik dari pemberian formula ekstrak 3 tanaman tersebut kemungkinan terjadi karena adanya kombinasi senyawa aktif yang

bersifat saling menguatkan efek sitotoksik sehingga nilai IC_{50} semakin menurun. Kandungan utama daun sirsak adalah acetogenin dan kandungan buah takokak adalah sejumlah golongan senyawa yang memiliki aktivitas antikanker seperti alkaloid, terpenoid, fenol, dan flavonoid.^{15,18}

Dari Gambar 3 terlihat bahwa pemberian formula ekstrak daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas memberikan pengaruh terhadap perubahan morfologi dan viabilitas sel MCF-7. Perubahan morfologi sel MCF-7 akibat pemberian formula ekstrak daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas berupa terjadinya perbesaran sel (*giant cell*) dibandingkan dengan kontrol. Setelah terjadi perbesaran kemudian sel mulai tampak membulat dan pipih lalu mati. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka perubahan morfologi sel semakin terlihat dengan jelas. Hal ini bisa disebabkan adanya penghambatan siklus sel pada fase G2/M sehingga sel yang telah mengalami mitosis dan replikasi DNA gagal mengalami pembelahan, akhirnya terbentuk sel yang poliploid dan berlanjut menuju apoptosis.

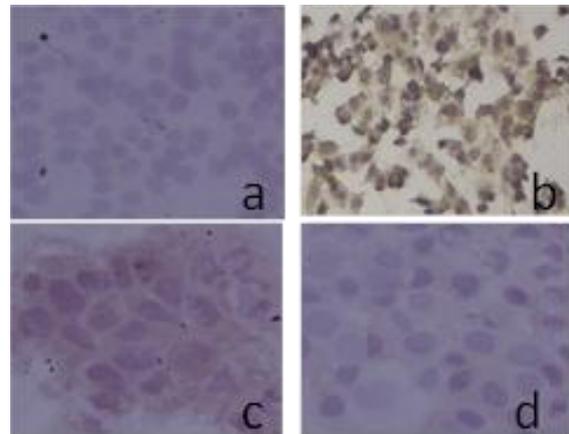
Sirsak mengandung annonuricin A dan B yang memiliki aktivitas sitotoksik di beberapa sel kanker antara lain kanker paru A-549, sel kanker payudara MCF-7, dan sel kanker kolon HT-29.¹⁹ Selain itu, sirsak juga mengandung bullatacin yaitu suatu senyawa acetogenin yang memiliki aktivitas antikanker. Bullatacin mampu menginduksi marginasi kromatin dan kondensasi sel tumor yang kemudian diikuti dengan kematian sel (apoptosis).²⁰

Bidara upas yang secara tradisional digunakan untuk pengobatan kanker dan tumor juga mengandung sejumlah senyawa aktif yang memiliki aktivitas antikanker. Kandungan flavonoid pada umbi bidara upas juga dapat memacu imunitas seluler dengan memproliferasi limfosit dan produksi *reactive oxygen intermediate* oleh sel makrofag.²¹ Aktivitas ini sangat

berperan dalam pencegahan mekanisme seluler perkembangan sel kanker.

Pengamatan ekspresi protein

Protein antiapoptosis Bcl-2 diekspresikan dengan tingkat yang cukup tinggi oleh sel MCF-7. Hal ini berkorelasi dengan respon MCF-7 yang sangat lemah terhadap agen kemoterapi. Berdasarkan hal tersebut maka ditelusuri mekanisme formula ekstrak air daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dalam menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 yang diarahkan pada penghambatan ekspresi Bcl-2. Ekspresi Bcl-2 diamati dengan metode imuno-sitokimia menggunakan antibodi Bcl-2.



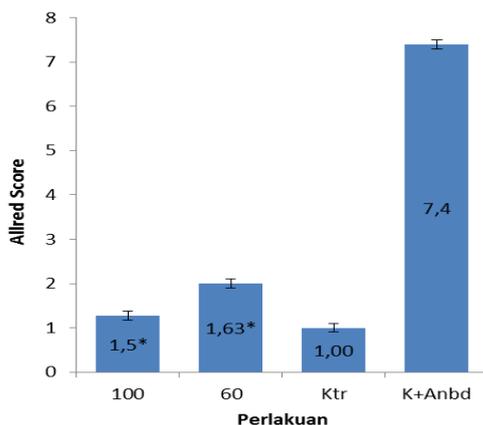
Gambar 4. Efek perlakuan ekstrak air formula daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan 1:1:1 terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel MCF-7

*Ket: a. Kontrol sel tanpa perlakuan yang tidak dicat dengan antibodi; b. Kontrol sel tanpa perlakuan yang dicat dengan antibodi Bcl-2; c. Perlakuan dengan konsentrasi 60 $\mu\text{g/mL}$; d. Perlakuan dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan perbesaran 100 kali.

Berdasarkan hasil pengamatan secara kualitatif seperti yang ditampilkan pada Gambar 4, diketahui bahwa pemberian ekstrak formula daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan 1:1:1 menunjukkan adanya penurunan ekspresi Bcl-2 dibandingkan dengan kontrol. Penurunan tingkat ekspresi Bcl-2

ditunjukkan pada perlakuan pemberian ekstrak formula A pada konsentrasi 60 µg/mL dan 100 µg/mL. Perbedaan morfologi sel terjadi pada kedua perlakuan yaitu intensitas warna inti sel yang berbeda dibandingkan dengan kontrol, juga perubahan warna plasma sel pada pemberian formula dengan konsentrasi 60 µg/mL.

Beberapa sel terlihat memiliki inti sel lebih dari satu yang menandakan telah terjadinya mitosis namun sel gagal mengalami pembelahan. Selanjutnya, hasil kuantifikasi ekspresi Bcl-2 dengan menggunakan *Allred Score* memperlihatkan bahwa persentase ekspresi akibat perlakuan formula jamu mengalami penurunan bermakna dibandingkan dengan kontrol sebagaimana terlihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Ekspresi BCl-2 setelah perlakuan formula jamu selama 48 jam dibandingkan dengan kontrol

Tanda * menunjukkan perbedaan bermakna dari perlakuan dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$).

Gambar 5 menunjukkan bahwa perlakuan jamu menyebabkan intensitas warna coklat sangat berkurang dibandingkan dengan kontrol yang dicat dengan antibodi. Perlakuan jamu dengan konsentrasi semakin tinggi semakin mengurangi intensitas ekspresi Bcl-2, hal ini dapat dilihat pada perlakuan jamu dengan konsentrasi 100 µg/mL ekspresi

Bcl-2 yang memberikan intensitas warna coklat yang lebih rendah dibanding konsentrasi 60 µg/mL.

Apoptosis pada sel MCF-7 akibat perlakuan formula ekstrak diketahui melalui uji imunositokimia dengan mengukur ekspresi protein Bcl-2. Penelusuran mekanisme apoptosis dapat dikorelasikan dengan ekspresi beberapa protein regulator, di antaranya Bcl-2. Sel MCF-7 adalah salah satu jenis sel kanker dengan over-ekspresi protein antiapoptosis Bcl-2.²² Golongan protein ini mengendalikan homeostatis mitokondria dan berperan dalam inisiasi apoptosis.²³ Pengamatan ekspresi Bcl-2 menunjukkan adanya penurunan yang disebabkan adanya perlakuan formula ekstrak daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas. Pada konsentrasi 60 µg/mL, formula ekstrak daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas ternyata telah mampu menurunkan ekspresi Bcl-2, bahkan pada konsentrasi 120 µg/mL formula ekstrak telah mampu menekan secara signifikan ekspresi Bcl-2.

Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa ekstrak etanol buah takokak memiliki efek sitotoksik kuat pada *cell line* Ehrlich's Ascites Carcinoma (EAC).¹⁵ Selanjutnya, pada percobaan *docking* menggunakan protein anti-apoptosis Bcl-2, solasodin pada buah takokak mampu mengikat energi dari protein Bcl-2. Dapat dipahami bahwa senyawa solasodin dengan energi ikatan minimal (-6,16 kkal/mol), diyakini sebagai kompleks ligan-protein terbaik. Hal ini disebabkan dengan menggunakan energi minimal, solasodin memiliki kemampuan mengikat reseptor protein Bcl-2 dan menyebabkan apoptosis.⁹ Dengan demikian, diduga bahwa masing-masing tumbuhan obat yang diuji memiliki senyawa aktif yang sinergis mampu meningkatkan efektifitasnya dalam menghambat proliferasi sel MCF-7 dan bahkan mendorong ke arah apoptosis dibandingkan dengan pengaruh ekstrak tunggal.

KESIMPULAN

Ekstrak air daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas terbukti memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} berturut turut 56,61 $\mu\text{g/mL}$, 85,75 $\mu\text{g/mL}$, dan 101,26 $\mu\text{g/mL}$. Formula ekstrak daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan 1:1:1 memiliki aktivitas penghambatan viabilitas sel kanker MCF-7 dengan nilai IC_{50} 48,89 $\mu\text{g/mL}$. Pemberian formula ekstrak daun sirsak, buah takokak, dan umbi bidara upas dengan perbandingan 1:1:1 mulai konsentrasi 60 $\mu\text{g/mL}$ dapat memacu terjadinya apoptosis sel MCF-7, terbukti mampu menekan secara bermakna ekspresi protein antiapoptosis Bcl-2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional yang telah memberikan izin dan fasilitas sehingga penelitian ini dapat berjalan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Sarkar S, Horn G, Moulton K, Oza A, Byler S, Kokolus S, et al. Cancer development, progression, and therapy: An epigenetic overview. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(10):21087–113.
2. Irigaray P, Belpomme D. Basic properties and molecular mechanisms of exogenous chemical carcinogens. *Carcinogenesis*. 2010;31(2):135–48.
3. Schneider KA. Counseling about cancer: Strategies for genetic counseling. 3rd ed. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2011.
4. Stewart BW, Wild CP. World Cancer Report 2014. Lyon; 2014.
5. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. 2011 Mar;144(5):646–74.
6. Greenwell M, Rahman P. Medicinal plants: Their use in anticancer treatment. *International Journal of Pharmaceutical Science Research*. 2015;6(10):4103–12.
7. Khazir J, Riley D, Pilcher L, De Maayer P, Mir B. Anticancer agents from diverse natural sources. *Natural Product Communications*. 2014;9(11):1655–69.
8. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tumbuhan Obat. Laporan Penelitian Riset Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obat di Indonesia Berbasis Komunitas (Ristoja 2012). Jakarta; 2012.
9. Minari J, Okeke U. Chemopreventive effect of *Annona muricata* on DMBA-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2014;15(4):327–34.
10. Bahuguna A, Khan I, Bajpai VK, Kang SC. MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 2017;12(2):115–8.
11. Hermawan A, Maryani R. Bidara Upas (*Merremia mammosa*) [Internet]. 2014 [cited 2019 Jun 30]. Available from: http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/en/?page_id=126
12. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, et al. Cell viability assays. In: Sittampalam GS, Coussens NP, Brimacombe K, Grossman A, Arkin M, Auld D, et al., editors. Assay guidance manual. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004.
13. Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, Salameh NM, Jamous RM, Hamadeh AM. Complementary and alternative medicine use among cancer patients in Palestine with special reference to safety-related concerns. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016 Jul;187:104–22.
14. Mangla B, Kohli K. Combination of natural agent with synthetic drug for the breast cancer therapy. *International Journal of Drug Development and Research*. 2009;10(1):22–6.
15. Panigrahi S, Muthuraman MS, Natesan R, Pemiah B. Anticancer activity of ethanolic extract of *Solanum torvum* SW. *International Journal of Pharmacy and*

- Pharmaceutical Sciences. 2014;6(Suppl 1):93–8.
16. Chang FR, Wu YC. Novel cytotoxic annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. *Journal of Natural Products*. 2001 Jul;64(7):925–31.
 17. Rady I, Bloch MB, Chamcheu R-CN, Banang Mbeumi S, Anwar MR, Mohamed H, et al. Anticancer properties of *Graviola* (*Annona muricata*): A comprehensive mechanistic review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018:1–39.
 18. Daud NNNM, Ya'akob H, Rosdi MN. Acetogenins of *Annona muricata* leaves: Characterization and potential anticancer study. *Integrative Cancer Science and Therapeutics*. 2016;3(4):543–51.
 19. Li H, Li X, Bai M, Suo Y, Zhang G, Cao X. Matrine inhibited proliferation and increased apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells via upregulation of Bax and down regulation of Bcl-2. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2015;8(11):14793–9.
 20. Chiu HF, Chih TT, Hsian YM, Tseng CH, Wu MJ, Wu YC. Bullatacin, a potent antitumor annonaceous acetogenin, induces apoptosis through a reduction of intracellular cAMP and cGMP levels in human hepatoma 2.2.15 cells. *Biochemical Pharmacology*. 2003 Feb;65(3):319–27.
 21. Jon F. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa*) Terhadap Proliferasi Limfosit Dan Produksi ROI Makrofag. Studi Eksperimental Infeksi *Salmonella Typhimurium* pada Mencit Balb/C. Universitas Diponegoro; 2012.
 22. Simstein R, Burow M, Parker A, Weldon C, Beckman B. Apoptosis, chemoresistance, and breast cancer: insights from the MCF-7 cell model system. *Exp Biol Med*. 2003;228(9):995–1003.
 23. Shamas-Din A, Kale J, Leber B, Andrews DW. Mechanisms of action of Bcl-2 family proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2013;5(4):a008714–a008714.

UCAPAN TERIMA KASIH
KEPADA MITRA BEBESTARI JURNAL KEFARMASIAN INDONESIA
VOLUME 9, TAHUN 2019

1. Prof. Dr. Abdul Rahman, M.Si., Apt
2. Prof. Dr. Berna Elya, M.Si., Apt
3. Dr.rer.nat. Nanang Fakhrudin, M.Sc., Apt
4. Dr.rer.nat. Adam Hermawan, M.Sc., Apt
5. Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Sc., Apt
6. Dr. Arthur Lelono, M.Sc
7. Dr. Yulvian Sani, M.Sc
8. Dra. Lucie Widowati, M.Si., Apt
9. Drs. Max Joseph Herman, M.Kes., Apt
10. Drh. Rita Marleta Dewi, M.Kes
11. Dra. Retno Gitawati, MS., Apt
12. Dra. Rini Sasanti Handayani, M.Kes., Apt
13. Didik Setiawan, M.Sc., Ph.D., Apt
14. Dr. Risna Triana Dewi
15. Dra. Ani Isnawati, M. Kes., Apt
16. Nanang Yunarto, M.Si., Apt

INDEKS PENULIS
JURNAL KEFARMASIAN INDONESIA
VOLUME 9, 2019

Alwani Hamad, 19	Intan Sari Oktoberia, 89
Adji Prayitno Setiadi, 114	Kristiana Sri Wijayanti, 48
Agung Endro Nugroho, 106	Kusmardi, 97
Almasyhuri, 10	Lestari Handayani, 126
Andi Makkulawu, 114	Nanang Yunarto, 89
Andi Nurul Annisa, 57	Nur Yulianingsih, 19
Arifayu Addiena Kurniatri, 89	Nurul Aini, 89
Asmiyenti Djaliasrin Djaliil, 19	Pangartika Hikariastri, 97
Betty Roosierhmatie, 126	Putu Nilasari, 73
Dian Ratih Laksmiawati, 97	Rasmaya Niruri, 65
Dian Sundari, 10	Reni Herman, 40
Dinihari Indah Kusumawati, 28	Rini Noviyani, 65
Dirga, 106	Sari Haryanti, 1, 140
Dwi Hartanti, 19	Sogandi, 73
Eko Setiawan, 114	Suharmiati, 126
Elda Nurnasari, 48	Syamsudin Abdillah, 97
Enggar Wijayanti, 82	Tri Budi Wahyuni Rahardjo, 114
Erza Genatrika, 57	Tri Ratna Sulistiyani, 28
Hendig Winarno, 97	Ulfa Fitriani, 82
I Dewa Putu Pramantara, 106	UlfatunNisa, 82
Ika Yanti M. Solikhah, 1,140	Wahyu Utaminingrum, 57
Indah Sulistyowati, 89	Yuli Widiyastuti, 1, 140
Indah Mei Rahajeng, 65	Zuraida Zulkarnain, 82

INDEKS SUBJEK
JURNAL KEFARMASIAN INDONESIA
VOLUME 9, TAHUN 2019

- Air cucian beras, 57
- Ampas daun teh, 57
- Anredera cordifolia*, 89
- Antibakteri, 48
- Antibakteri, 73
- Antinflamasi, 97
- Antioksidan, 89
- Antiseptik, 10
- Antiviral, 40
- Apoptosis, 114
- Bakteri endofit, 28
- Biaya obat, 126
- BLU/BLUD, 126
- Buah takokak, 114
- Caesalpinia sappan*, 1
- Clinical outcome*, 106
- Crude extract fukoidan, 97
- Curcuma xanthorrhiza*, 89
- Daging ayam, 19
- Lipase, 89
- Mangiferin, 40
- Masker gel, 57
- Daun sirsak, 114
- Daun tembakau, 48
- Daun, 19
- Diabetes mellitus, 114
- Diabetes neuropati, 106
- EGCG, 40
- Ekstrak daun sirih, 10
- Escherichia coli*, 48
- Faktor kepatuhan, 114
- Farmakokinetik klopidogrel, 65
- Geriatric, 114
- HMG CoA reduktase, 89
- Indeks kombinasi, 1
- Indeks massa tubuh, 82
- Infusa, 19
- Karies gigi, 73
- Katekin, 40
- Kuersetin, 40
- L-asparaginase, 28
- Rumah Sakit, 126
- S.aureus*, 10
- Sargassum crassifolium*, 97

MCF-7, 114

MDR-1, 65

Mengkudu, 73

Minyak atsiri, 48

Nyeri neuropati, 106

Obat kumur, 10

Obesitas, 82

Pengawet alami, 19

Ramuan jamu, 82

Rawat jalan, 126

Sel RAW 264.7, 97

Staphylococcus aureus, 48

Streptococcus mutans, 73

Syzygium polyanthum, 19

Tanaman obat, 28

Uji sensitisasi, 57

Umbi bidara upas, 114

Usia lanjut, 114

Varian 3435, 65

Zingiber zerumbet, 1



FORMULIR PERNYATAAN KLIRENS ETIK PUBLIKASI ILMIAH

Sehubungan dengan pengajuan naskah untuk dinilai, dengan ini saya:

Nama :

Unit//Instansi :

.....

Menyatakan bahwa setiap naskah dalam daftar terlampir adalah hasil karya sendiri atau bersama tim, yang:

Isinya **asli** atau bebas dari a) fabrikasi; b) falsifikasi; c) plagiasi; d) duplikasi; e) fragmentasi/salami; dan f) pelanggaran hak cipta data/isi.

Penerbitnya **sah** atau bebas dari a) pelanggaran hak cipta lembaga/penerbit; b) penerbit pemangsa (jurnal/buku), dan c) penerbit rekayasa.

Perolehannya bila melalui pertemuan ilmiah **benar** atau bebas dari: a) rekayasa pertemuan ilmiah; dan b) pertemuan ilmiah yang tidak dihadiri.

Perolehannya bila menggunakan data sekunder harus melalui persetujuan instansi terkait

Pengajuannya **pertama kali** atau belum pernah diajukan untuk dinilai bagi keperluan yang sama pada pengajuan sebelumnya.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan jujur dan bertanggung jawab sesuai dengan Peraturan kepala LIPI No.06/E/2013 tentang Kode Etika Peneliti.

....., 20.....

Penulis

Materai

Rp. 6000,-

(.....)

Catatan : Surat pernyataan beserta daftar lampirannya dibuat rangkap empat: asli (bermaterai) untuk redaksi, fotokopi pertama untuk TP2I, TP2U, dan penulis.

Catatan:

Silakan kirim formulir persetujuan yang bertanda tangan asli via pos ke Redaksi Pelaksana Jurnal Kefarmasian Indonesia dengan alamat. Jl. Percetakan Negara No.23, Jakarta, 10560 atau *E-mail*: jurnalkefarmasian@gmail.com



FORMULIR PERNYATAAN HAK CIPTA (*COPYRIGHT STATEMENT*)

Naskah yang berjudul :

.....
.....
.....

Nama penulis :

Naskah akan diterbitkan dalam Jurnal Kefarmasian Indonesia Vol No.-20...

Penulis menyatakan bahwa:

Silakan beri tanda (✓) :

Ada kutipan utuh

Kutipan utuh data sekunder (bentuk kata, angka, gambar, tabel) yang merupakan barang hak cipta (*copyright*), disalin (*reproduced*), digambar (*redrawn*), ditabelkan (*reused*) dalam versi sendiri, sudah seizin pemegang hak cipta (penulis, penerbit, organisasi).

Sebutkan data.....

Tidak ada kutipan utuh

Kutipan sebagian data sekunder (bentuk kata dan angka) yang disalin (*reproduced*), digambar (*redrawn*), ditabelkan (*reused*) sebagai pembanding untuk data primer Anda atau pelengkap tabel/gambar Anda sendiri sudah menyebutkan referensi sesuai dengan format pengutipan data.

Naskah ini asli dan penulis mengalih hak cipta (*transfer of copyright*) naskah ini kepada Jurnal Kefarmasian Indonesia. Penulis akan menerima 1 eksemplar naskah dalam bentuk cetak lepas (*off-print*) dan 2 eksemplar jurnal cetak (*print journal*).

....., 20.....

Disetujui oleh Penulis utama

(.....)

Catatan:

Silakan kirim formulir persetujuan yang bertanda tangan asli via pos ke Redaksi Pelaksana Jurnal Kefarmasian Indonesia dengan alamat. Jl. Percetakan Negara No.23, Jakarta, 10560 atau *E-mail*: jurnalkefarmasian@gmail.com



PETUNJUK PENULISAN

Tipe naskah

Jurnal Kefarmasian Indonesia (JKI) menerima naskah hasil penelitian dan *review* hasil-hasil penelitian yang berkaitan dengan upaya kesehatan di bidang farmasi.

Persyaratan umum untuk naskah yang hendak diajukan adalah 1) naskah asli hasil karya penulis, 2) belum pernah diterbitkan sebelumnya, 3) naskah tidak sedang dalam proses publikasi di jurnal lain, 4) dituliskan menggunakan format yang telah ditentukan.

Naskah akan di-*review* oleh mitra bestari dan dewan redaksi.

Dewan redaksi akan memutuskan apakah naskah yang diajukan dapat diterbitkan atau tidak dalam JKI.

Dewan redaksi berhak mengedit tulisan dalam hal gaya penulisan, format, dan kejelasan kalimat.

Penulis akan diminta untuk memperbaiki naskah dalam hal substansi, format, dan penulisan berdasarkan masukan dari mitra bestari dan dewan redaksi.

Naskah yang tidak dapat diterbitkan dalam JKI tidak dapat dikembalikan dan penulis dipersilakan untuk mengajukan naskah tersebut ke jurnal lain.

Pengajuan naskah

Penulis harus mengirimkan naskah melalui e-journal dengan terlebih dahulu login melalui website <http://ejournal.litbang.kemkes.go.id/index.php/jki>

Penulisan naskah

Naskah harus diketik menggunakan *software* pengolah kata (Microsoft Word atau Open Office). *Font* yang digunakan di seluruh naskah adalah Times New Roman spasi tunggal, dengan jumlah halaman antara 7 dan 12 halaman (termasuk gambar dan tabel). Ukuran kertas yang digunakan adalah A4, format satu kolom, dengan margin normal, dan pengaturannya *justified*.

Sistematika penulisan

- Petunjuk penulisan naskah secara lengkap dapat dilihat pada website <http://ejournal.litbang.kemkes.go.id/index.php/jki/authorguideline>
- Naskah ditulis secara sistematis dengan **urutan**: Judul; Nama Penulis; Afiliasi Penulis; Abstrak; Kata Kunci; Pendahuluan; Metode; Hasil dan Pembahasan; Kesimpulan; Ucapan Terima Kasih; dan Daftar Rujukan.
- **Judul** harus akurat, jelas, spesifik, dan lengkap, maksimal 15 kata. Tidak diperkenankan mengandung singkatan yang jarang digunakan. Judul dituliskan dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
- **Nama penulis** ditulis tanpa gelar dan jabatan profesional seperti Prof, Dr, Manajer Produksi, dll. Selalu tuliskan nama Anda dengan lengkap tanpa disingkat.
- **Afiliasi** semua penulis dituliskan dengan lengkap. Afiliasi meliputi: nama departemen/unit, nama universitas/nama instansi, alamat, kota, kode pos, negara. Penulis korespondensi (termasuk alamat *e-mail*) ditulis dengan menambahkan tanda bintang(*) pada *superscript* setelah nama. Bila penulis memiliki afiliasi yang berbeda, diberikan kode nomor berbeda di akhir nama penulis dengan format *superscript*. Bila semua penulis memiliki afiliasi/instansi yang sama, kode nomor tidak perlu dituliskan.
- **Abstrak** ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris dengan jenis huruf Times New Roman, spasi tunggal. Abstrak harus jelas, singkat, dan deskriptif. Abstrak ditulis dalam bentuk narasi dalam satu paragraf, harus memberikan pengantar singkat disertai dengan masalah, tujuan, metode, ringkasan hasil serta kesimpulan. Abstrak ditulis dengan jumlah kata antara 150-250 kata.
- **Kata kunci** maksimal 5 kata, dipilih yang paling mewakili dan paling spesifik menggambarkan isi naskah. Setiap kata kunci ditulis dengan format *sentence case*, dipisahkan dengan titik koma (;).
- Dalam **Pendahuluan, Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, dan Saran**:
 - Jika ingin menuliskan singkatan, tulis terlebih dahulu dengan lengkap diikuti dengan singkatannya. Contoh: Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas).
 - Referensi diurutkan berdasarkan kemunculannya dalam naskah dan nomor urutnya dituliskan secara *superscript* setelah kalimat, gambar, atau tabel yang disitasi/dikutip/ditampilkan.
 - Untuk penelitian laboratorium, sebutkan merek dan jenis alat dan bahan yang digunakan
 - Judul tabel dituliskan sebelum tabel, *center, bold* ukuran huruf 12. Isi dan keterangan tabel menggunakan ukuran huruf 10. Jangan menampilkan garis vertikal pada tabel. Pastikan menulis kalimat pengantar sebelum menampilkan tabel.
 - Judul gambar dituliskan setelah gambar, *center, bold* ukuran huruf 12. Pastikan gambar yang ditampilkan jelas dan dapat terbaca. Selalu tuliskan pengantar sebelum menampilkan gambar.
 - Kesimpulan harus menjawab tujuan penelitian.
 - Bila tidak hendak mengemukakan saran, bab ini tidak perlu ditulis.
- **Ucapan terima kasih** harus dituliskan. Terima kasih dapat ditujukan kepada penyandang dana dan pihak-pihak yang membantu selama penelitian dan penulisan naskah.
- **Daftar rujukan** ditulis dalam format Vancouver.



CONTOH PENULISAN DAFTAR RUJUKAN

Daftar rujukan untuk naskah dalam JKI ditulis menggunakan format Vancouver.

Artikel/jurnal ilmiah

Format umum untuk sitasi artikel/jurnal ilmiah adalah:

Penulis. Judul publikasi. Nama jurnal/majalah ilmiah. Tahun publikasi;volume(nomor):halaman.

Artikel dengan 1 orang penulis

1. Suhardi. Preferensi peminum alkohol di Indonesia menurut Riskesdas 2007. Buletin Penelitian Kesehatan. 2011;39(4):154-64.

Artikel dengan 2 sampai 6 penulis

2. Siswantoro H, Hasugian AR, Avrina R, Risniati Y, Tjitra E. Efikasi dan keamanan dihidroartemisinin-piperakuin (DHP) pada penderita malaria falsiparum tanpa komplikasi di Kalimantan dan Sulawesi. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2011;21(3):135-44.

Artikel dengan penulis lebih dari 6 orang

3. Prasaja B, Harahap Y, Lusthom W, Setiawan EC, Ginting MB, Hardiyanti, et al. A bioequivalence study of two tamsulosin sustained-release tablets in Indonesian healthy volunteers. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 2011;36(2):109-13.

Artikel elektronik dengan nomor DOI

4. Nakanishi S, Abe M, Yamamoto S, Murai M, Miyoshi H. Bis-THF motif of acetogenin binds to the third matrix-side loop of ND1 subunit in mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011 Sep;1807(9):1170-6. doi: 10.1016/j.bbabi.2011.05.012.

Artikel elektronik tanpa nomor DOI

5. de Oliveira MA, Lacerda CD, Bonella AF. Developing methods to compare tablet formulation of atorvastatin. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* [Internet]. 2012 [cited 2013 Nov 21];48(4):801-10.
Available from: <http://www.scielo.br/pdf/bjps/v48n4/v48n4a24.pdf>
6. Widodo Y, Harahap H, Triwinarto A. Strategi peningkatan praktik pemberian ASI eksklusif. *Jurnal Penelitian Gizi dan Makanan* [Internet]. 2003 [disitasi 2005 Apr 14];26(1):31-8. Diunduh dari: <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/pgm/article/view/1428>

Buku

Format umum untuk sitasi buku adalah:

Penulis. Judul: subjudul. Edisi. Lokasi/kota: Penerbit; tahun terbit.

Buku dengan 1 orang penulis

7. Rodriguez-Amaya DB. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: OMNI Research; 2001.

Buku dengan 2 sampai 6 penulis

8. Siregar CJP, Wikarsa S. Teknologi farmasi sediaan tablet: dasar-dasar praktis. Jakarta: EGC; 2010.

Buku dengan nama editor

9. Soepardi EA, Iskandar N, Bashiruddin J, Restuti RD, editor. Buku ajar ilmu kesehatan: telinga, hidung, tenggorok, kepala dan leher. Edisi 6. Jakarta: FKUI; 2007.
10. Beale JM, Block JH, editors. Wilson & Gisvold's textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 12th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

Organisasi sebagai penulis

11. Satgas Imunisasi PP IDAI. Panduan imunisasi anak: mencegah lebih baik daripada mengobati. Jakarta: Ikatan Dokter Anak Indonesia; 2011.

Tanpa nama penulis

12. Farmakope Indonesia. Edisi 5. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2014.

Bab dalam buku/Bagian buku

13. Sukarban S, Santoso SO. Antelmintik. Dalam: Ganiswara SG, Setiabudy R, Suyatna FD, Purwastyastuti, editor. Farmakologi dan terapi. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi FKUI; 1995. Hal. 523-536.
14. Carlin BAC. Direct compression and the role of filler-binder. In: Ausburger LL, Hoag SW, editors. Pharmaceutical dosage forms: tablets. 3rd ed. Volume 2, Rational design and formulation. New York: Informa Healthcare; 2008. p. 173-216.

Buku terjemahan

15. Brunton LL, Parker KL, Blumenthal DK, Buxton ILO, editor. Goodman & Gilman manual farmakologi dan terapi [diterjemahkan oleh Sukandar EY, Adnyana IK, Sigit JI, Sasongko LDN, Anggadiredja K]. Jakarta: EGC; 2010.

Buku dengan lebih dari satu penerbit

16. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors. Handbook of pharmaceutical excipients. 6th ed. Grayslake: Pharmaceutical Press; 2009. Jointly published with the American Pharmacist Association.

Webpage

Format umum untuk sitasi dari internet adalah:

Penulis. Judul publikasi [Internet]. Lokasi/kota (jika ada): Penerbit; tanggal publikasi dengan format tahun bulan tanggal [tanggal *update* terakhir (jika ada); tanggal disitasi]. Diunduh dari: alamat *web*.

Berikut adalah contoh-contoh sitasi dari *webpage* dengan berbagai kelengkapan elemen sitasi.

17. Philippidis A. The top 25 best-selling drugs of 2014 [Internet]. New Rochelle: Genetic Engineering & Biotechnology News; 2015 Feb 23 [cited 2015 Mar 16]. Available from: <http://www.genengnews.com/insight-and-intelligenceand153/the-top-25-best-selling-drugs-of-2014/77900383/>
18. Experimental drug shows promise in lowering cholesterol, heart attack risk [Internet]. 2015 Mar 15 [cited 2015 Mar 16]. Available from: <http://www.drugs.com/news/experimental-shows-promise-lowering-cholesterol-heart-attack-risk-56027.html>
19. US Food and Drug Administration. Atorvastatin calcium dissolution method [Internet]. Silver Spring: US Food and Drug Administration; [date unknown] [updated 2004 Jan 15; cited 2013

- Jun 1]. Available from:
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.cfm
20. Badan Litbang Pertanian. Bebaskan residu pestisida sayuran dan buah dengan ozonisasi [Internet]. Jakarta: Badan Litbang Pertanian; 2015 Mar 11 [disitasi 2015 Mar 13]. Diperoleh dari: <http://www.litbang.pertanian.go.id/berita/one/2106/>

Prosiding

Format umum untuk sitasi prosiding adalah:

Editor. Judul prosiding. Judul seminar/konferensi; tanggal pelaksanaan; lokasi/kota tempat seminar/konferensi dilaksanakan, negara. Lokasi/kota penerbit: nama penerbit; tahun terbit.

Buku prosiding utuh

21. Budiyo, Ginandjar P, Saraswati LD, Wuryanto MA, Widajanti L, editor. World fit for children. Prosiding Seminar Nasional dalam rangka Dies Natalis Undip ke-55; 2012 Okt 6; Semarang, Indonesia. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2012.

Makalah bagian dari prosiding

22. Kunz U, Kirschning A. A new microreactor for the solution-phase synthesis of potential drugs. In: Matlosz M, Ehrfeld W, Baselt JP, editors. Microreaction technology. IMRET 5: Proceedings of the Fifth International Conference on Microreaction Technology; 2001 May 27-30; Strasbourg, France. Berlin: Springer; 2002. p. 424-45.

Thesis/Disertasi

23. Dharmayanti NLPI. Perubahan genom dan karakter virus avian influenza sub tipe H5N1 pada unggas di Indonesia [disertasi]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2009.
24. Basto PA. Development of polymeric nanoparticle vaccines for immunostimulation [PhD thesis]. Cambridge, MA: Massachusetts Institute of Technology; 2013.

Paten

25. Nerurkar M, Naringrekar V, inventors; Bristol-Myers Squibb Company, assignee. Aripiprazole complex formulation and method. United States patent US 7115587 B2. 2006 Oct 3.

Dokumen Pemerintah

Undang-undang

26. Republik Indonesia. Undang-undang Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2014 tentang Kesehatan Jiwa.

Peraturan Pemerintah

27. Republik Indonesia. Peraturan Pemerintah Nomor 33 Tahun 2012 tentang Pemberian Air Susu Ibu Eksklusif. Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 58. Jakarta: Sekretariat Negara; 2012.

Peraturan Menteri

28. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 59 Tahun 2014 tentang Standar Tarif Pelayanan Kesehatan dalam Penyelenggaraan Program Jaminan Kesehatan. Jakarta: Kementerian Kesehatan; 2014.



PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560
Telp. (021) 42881758, 42881762, 42881754, Fax. (021) 42881754
www.pusat1.litbang.depkes.go.id

ISSN 2085-675X



9 772085 675008