



JURNAL

Kefarmasian Indonesia

The Indonesian Pharmaceutical Journal

Potensi Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.))
terhadap Ekspresi p53 pada Sel Kanker HeLa Cell Lines
(Wahyu Hidayati, Landyyun Rahmawan Sjahid,
Wahyu Ismalasari, Kusmardi Kusmardi)

Karakteristik Minuman Probiotik Sari Ubi Kayu dari Kultur Bakteri
Lactobacillus acidophilus dan *Streptococcus thermophilus*
(Nunung Yulia, Adi Wibowo, Eva Dania Kosasih)

Efek Iritasi Sabun Mandi Batang Mengandung Susu Produk
Usaha Kecil Menengah di Kota Cimahi
(Suci Nar Vikasari, Faizal Hermanto, Elivas Simatupang, Afifah Bambang Sutjiatmo,
Titta Hartiyana Sutarna, Ririn Puspawati, Lucky Rachmawan, Fahmi Ahsanul Haq)

Perbandingan Teknik Aerasi dan Ultrasonikasi Gelasi Ionik Nanopartikel
Deksametason Natrium Fosfat
(Bambang Hernawan Nugroho, Multi Tri Wardani, Suparmi)

Optimasi Formula Krim Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynus*) Variasi Konsentrasi
Asam Stearat, Trietanolamin, dan Gliserin
(Febia Arien Lestari, Wahida Hajrin, Nisa Isneni Hanifa)

Preparation of Curcumin-Liposomes using pH-Driven Method
to Enhance Stability and Encapsulation Efficiency
(Fransiska Christydira Sekaringtyas, Swasmi Purwajanti,
Etik Mardiyati, Sri Ningsih)

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* (Linn.)) sebagai Antihiperurisemia
(Rela Sonia, Yusneli, Fitrianingih)

Ekstrak Etanol Kopi Hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) sebagai Antihiperqlikemi
pada Mencit (*Mus musculus*)
(Irawati Hamdani, Salfauqi Nurman)

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 Sulistyanningrum, M.Si. (Kimia Bahan Alam)
4. Arifayu Addiena Kurniatri, S.Si. (Kimia Analisis dan Obat Tradisional)
5. Indah Sulistyowati, S.Si. (Kimia Analisis)
6. Intan Sari Oktoberia, S.Si. (Kimia Analisis)
7. Nurul Aini, S.Farm., Apt. (Kimia Farmasi dan Analisis)
8. 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. Prof. Dr. Heni Rachmawati, Apt. (Farmasetika, Formulasi Nanoteknologi, *Drug Delivery Targeting*)
4. Dr.rer.nat. Adam Hermawan, M.Sc., Apt. (Kimia Farmasi, Bioteknologi dan *Drug Discovery*)
5. Dr. Arthur Ario Lelono, M.Sc. (Kimia Analisis dan Kimia Bahan Alam)
6. Didik Setiawan, M.Sc., Ph.D, Apt. (Asuhan Kefarmasian dan Farmakoekonomi)
7. Dr. Kurnia Sari Setio Putri, M.Farm., Apt. (Farmasetika dan Teknologi Farmasi)
8. Dr.rer.nat. Nanang Fakhruddin, M.Sc., Apt. (Farmakognosi, Fitokimia, dan Obat Bahan Alam)
9. Dr. Rizna Triana Dewi, M.Si. (Kimia dan Farmakologi)
10. Dr. drh. Yulvian Sani, M.Sc. (Toksikologi, Farmakologi, dan Obat Tradisional)
11. Drs. Max Joseph Herman, M.Kes., Apt. (Asuhan Kefarmasian dan Manajemen Farmasi)
12. Dra. Lucie Widowati, M.Si., Apt. (Tanaman Obat dan Obat Tradisional)
13. Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt (Teknologi Farmasi dan Epidemiologi Klinik)
14. Dra. Retno Gitawati, M.S., Apt. (Farmakologi dan Farmasi Klinik)
15. Dra. Rini Sasanti Handayani, M.Kes., Apt. (Asuhan Kefarmasian dan Manajemen Farmasi)
16. 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

Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah karena atas karunia-Nya, Jurnal Kefarmasian Indonesia Volume 10 Nomor 2 tahun 2020 telah terbit dengan tepat waktu. Berbagai penelitian dan pengembangan telah dituangkan dan disusun menjadi bentuk naskah dalam rangka penyebarluasan pengetahuan. Adapun tema-tema yang dibahas dalam terbitan kali ini adalah mengenai tanaman obat, formulasi, dan minuman.

Potensi atau efektivitas ekstrak tanaman kembali dimanfaatkan untuk Penyakit Tidak Menular (PTM) yang penderitanya setiap tahun makin meningkat. Dalam edisi kali ini, Wahyu Hidayati, dkk membahas tentang pemanfaatan ekstrak daun salam (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) melalui uji preklinik yang akan dikembangkan untuk penyakit kanker yang ditujukan terhadap ekspresi p53 pada sel kanker Hela Cell lines. Penelitian lain yang dilakukan oleh Irawati Hamdani, dkk melihat efek ekstrak etanol dari kopi hijau arabika (*Coffea arabica* L.) sebagai antihiperlikemi yang dicobakan pada Mencit (*Mus musculus*). Sementara itu, Rela Sonia dkk mengangkat potensi ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* (Linn.) sebagai antihiperurisemia untuk penderita asam urat. Semua penelitian uji preklinik ini merupakan dasar untuk pengembangan produk kearah OHT (Obat Herbal Terstandar) atau bahkan untuk dikembangkan ke arah Fitofarmaka.

Penelitian formulasi yang dibuat oleh Febia Arien Lestari membahas mengenai optimasi krim ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus*) dengan menggunakan konsentrasi yang bervariasi antara asam stearat, trietanolamin, dan gliserin yang dapat diaplikasikan untuk krim tabir surya. Selain itu ada artikel tentang pembuatan liposom kurkumin untuk meningkatkan stabilitas dan efisiensi penyerapan oleh Fransiska Christydira Sekaringtyas dkk dan artikel tentang serta pembuatan nanopartikel deksametason natrium fosfat dengan teknik aerasi dan ultrasonikasi oleh Bambang Hernawan Nugroho dkk. Tak kalah menarik adalah hasil penelitian Nunung Yulia dkk mengenai karakteristik minuman probiotik yang dibuat dari sari ubi kayu dari kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*, dan tulisan dari Suci Nar Vikasari dkk yang membahas tentang uji iritasi sabun mandi yang dibuat dari susu produk UMKM (Usaha Menengah, Kecil, Mikro).

Semoga naskah yang ada pada terbitan ini dapat menambah wawasan para pembaca dan juga bermanfaat untuk perkembangan dan peningkatan ilmu pengetahuan.



NLM: QV 84

Wahyu Hidayati, Landyyun Rahmawan Sjahid1, Wahyu Ismalasari1, Kusmardi Kusmardi
(Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka, Jakarta, Indonesia; Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia)

**Potensi Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) terhadap Ekspresi p53 pada Sel Kanker HeLa Cell Lines
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2):79-86**

Abstrak

Daun salam (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) telah digunakan sebagai salah satu obat tradisional di Indonesia, akan tetapi eksplorasi daun salam terhadap sel kanker belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol 96% daun salam dalam meningkatkan ekspresi p53 pada sel kanker serviks HeLa cell lines. Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dilanjutkan dengan penapisan fitokimia, dan uji ekstrak terhadap sel HeLa dengan metode imunohistokimia. Pengamatan ekspresi protein p53 dilakukan menggunakan software ImageJ Profiler Plugin versi 1.52a. Data H-score diolah menggunakan One-Way ANNOVA program IBM SPSS versi 20 dan dilanjutkan dengan analisis Post Hoc menggunakan Duncan test. Identifikasi ekstrak etanol 96% daun salam mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, terpenoid, dan steroid. Berdasarkan hasil uji Post Hoc, pemberian ekstrak etanol 96% daun salam dengan tiga variasi dosis (156 µg/ml, 234 µg/ml, 312 µg/ml) dan kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan, sedangkan dosis tinggi (312 µg/ml) tidak berbeda nyata terhadap kontrol positif. Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak etanol 96% daun salam pada dosis 312 µg/ml dapat menghambat ekspresi protein p53 mutan pada sel kanker serviks HeLa cell lines.

Kata kunci: Kanker serviks; p53; Ekstrak etanol; *Syzigium polyanthum*

NLM: QV 766

Nunung Yulia, Adi Wibowo, Eva Dania Kosasih
(Jurusan Farmasi, Politeknik Kesehatan Kemenkes Tasikmalaya, Kota Tasikmalaya, Indonesia)

**Karakteristik Minuman Probiotik Sari Ubi Kayu dari Kultur Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2):87-94**

Abstrak

Pangan fungsional merupakan pangan yang dikonsumsi sebagai makanan biasa yang memiliki manfaat fisiologis dan dapat mengurangi efek dari penyakit kronis. Salah satu produk pangan fungsional yang banyak dikonsumsi adalah minuman probiotik. Minuman probiotik yang dikenal masyarakat selama ini merupakan hasil fermentasi susu sapi sehingga relatif mahal harganya. Pemanfaatan bahan baku alternatif seperti sari ubi kayu diperlukan untuk menghasilkan produk minuman probiotik yang lebih terjangkau dan memiliki kualitas yang baik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbandingan kultur terhadap karakteristik minuman probiotik dan mendapatkan perbandingan kultur terbaik yang menghasilkan karakteristik probiotik terbaik dari minuman probiotik sari ubi kayu. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif dengan jenis bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* sebagai inokulum uji. Kultur bakteri dibuat seri perbandingan dengan sari ubi kayu yaitu 20:50, 30:50, 40:50, dan 50:50. Pengujian karakteristik yang diamati adalah nilai pH, viskositas, total bakteri asam laktat (BAL) dan uji aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan kultur dengan sari ubi kayu terbaik yang menghasilkan minuman probiotik yang memenuhi syarat sebagai kriteria probiotik adalah 50:50 dengan nilai pH yaitu 4,1 ; viskositas yaitu 0,706 g/mL; total bakteri asam laktat (BAL) yaitu 2,1x10⁶ cfu/mL; dan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu 5,3 mm.

Kata kunci: Minuman probiotik; Ubi kayu; *Lactobacillus acidophilus*; *Streptococcus thermophilus*

NLM: QV 233

Suci Nar Vikasari, Faizal Hermanto, Elivas Simatupang, Afifah Bambang Sutjiatmo, Titta Hartyana Sutarna, Ririn Puspawati, Lucky Rachmawan, Fahmi Ahsanul Haq
(Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia; Badan Penelitian dan Pengembangan Kota Cimahi, Cimahi, Indonesia)

Efek Iritasi Sabun Mandi Batang Mengandung Susu Produk Usaha Kecil Menengah di Kota Cimahi
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2):95-101

Abstrak

Salah satu cara meningkatkan keuntungan usaha kecil dan menengah (UKM) Kota Cimahi adalah dengan diversifikasi produk melalui pembuatan sabun batang yang berasal dari susu sapi hasil UKM. Sabun mandi batang harus mempunyai tingkat keasaman (pH) yang tepat, bila tidak akan membuat kulit kering, gatal atau bahkan akan mengalami iritasi. Oleh karena itu dilakukan penelitian terhadap efek iritasi sabun mandi batang yang diproduksi UKM kota Cimahi dengan melakukan pengujian iritasi sesuai pedoman uji toksisitas nonklinis secara *in vivo* pada hewan uji tikus. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok dan dipaparkan sabun selama empat jam. Lima sampel sabun diperoleh dari UKM di kelurahan Cipageran, kota Cimahi. Pengamatan dilakukan pada jam ke-1,4, 24, 48 dan 72 jam setelah pemaparan dan dilanjutkan selama 14 hari. Parameter yang diamati adalah eritema dan udem, serta indeks iritasi primer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima sabun mandi yang mengandung susu sapi produksi UKM kota Cimahi tidak menyebabkan eritema dan udem. Hasil perhitungan indeks iritasi primer semua sampel sabun mandi sebesar 0,0. Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa, sabun mandi batang mengandung susu sapi produksi UKM Kota Cimahi masuk kategori iritasi sangat ringan (*negligible*).

Kata kunci: Sabun mandi; Susu; *In vivo*; Iritasi

NLM: QU 55.7

Bambang Hernawan Nugroho, Multi Tri Wardani, Suparmi

(Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia; Pusat Penelitian Nanofarmasi, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia)

Perbandingan Teknik Aerasi dan Ultrasonikasi Gelasi Ionik Nanopartikel Deksametason Natrium Fosfat

Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2): 102-109

Abstrak

Alginate, polimer alami yang biokompatibel dan biodegradabel telah banyak digunakan sebagai pembawa molekul obat menggunakan metode gelasi ionik (*crosslinking*). Salah satu faktor yang harus diperhatikan dalam sintesisnya adalah efek mekanik. Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan proses preparasi dan karakteristik dari *crosslinker* kalsium alginate pembawa deksametason natrium fosfat dengan teknik *low energy* dan *high energy*. Nanosuspensi dibuat dalam enam formula menggunakan 3 teknik, yaitu *low energy* (aerasi), *high energy* (ultrasonikasi), dan kombinasi *low* dan *high energy* (aerasi dan ultrasonikasi) dengan konsentrasi deksametason

natrium fosfat dan natrium alginate yang tetap, yaitu 0,2% dan 0,1%, serta dengan konsentrasi kalsium klorida 0,02% dan 0,2%. Penentuan ukuran partikel, zeta potensial dan morfologi dari nanopartikel dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), *Scanning Electron Microscope* (SEM), dan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Penetapan nilai efisiensi enkapsulasi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV/Vis dan analisis statistika hasil nanosuspensi dilakukan menggunakan uji MANOVA. Sintesis nanosuspensi menggunakan teknik kombinasi *low* dan *high energy* (aerasi dan ultrasonikasi) menghasilkan karakteristik paling optimal dengan nilai ukuran partikel $352,90 \pm 6,10$ nm, indeks polidispersitas terhomogen ($0,52 \pm 0,04$), zeta potensial optimal $-44,40 \pm 0,4$ mV, efisiensi enkapsulasi 49,5-74,8% dan bentuk partikel yang sferis. Dapat disimpulkan bahwa preparasi *crosslinker* kalsium alginate sebagai pembawa DNF menggunakan teknik kombinasi *low* dan *high energy* merupakan metode preparasi yang menghasilkan nanosuspensi paling optimal.

Kata kunci: Alginate; Gelasi ionik; Deksametason natrium fosfat; Aerasi; Ultrasonikasi

NLM: QV 766

Febia Arien Lestari, Wahida Hajrin, Nisa Isneni Hanifa (Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia)

Optimasi Formula Krim Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynus*) Variasi Konsentrasi Asam Stearat, Trietanolamin, dan Gliserin

Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2): 110-119

Abstrak

Tanaman katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan polifenol yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan diketahui dapat berperan sebagai fotoprotektor sehingga dapat diformulasi menjadi sediaan krim tabir surya. Pemilihan basis krim sangat penting karena basis tidak hanya sebagai pembawa bahan aktif saja, namun juga dapat mempengaruhi sifat fisik dan efektivitas sediaan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi formula optimum basis krim dan evaluasi sediaan krim ekstrak daun katuk dengan variasi konsentrasi asam stearat, TEA, dan gliserin. Optimasi formula dilakukan melalui pendekatan metode *Simplex Lattice Design* dengan jumlah formula sebanyak 13. Hasil evaluasi uji sifat fisik basis krim diolah dengan perangkat lunak *Design Expert*. Hasil penelitian ini diperoleh formula optimum dengan konsentrasi asam stearat, gliserin, dan TEA secara berturut-turut sebesar 13,16%, 12%, dan 3,84%. Hasil evaluasi krim ekstrak daun katuk dengan formula optimum diperoleh daya sebar 4,89 cm, daya lekat 0,56 detik, dan pH 6,1. Hasil uji akseptabilitas menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak daun katuk dapat diterima dengan sangat baik oleh konsumen.

Kata kunci: Daun katuk; Krim; *Simplex Lattice Design*; *Design Expert*

NLM: QU 83

Fransiska Christydira Sekaringtyas*, Swasmi Purwajanti, Etik Mardliyati, Sri Ningsih (Pusat Teknologi Farmasi dan Medika – Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi Kawasan Puspipstek Serpong, Tangerang Selatan, Banten, Indonesia)

Preparasi Liposom Kurkumin Menggunakan Metode Pengaturan pH untuk Meningkatkan Stabilitas dan Efisiensi Penjerapan
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2):120-129

Abstrak

Kurkumin merupakan senyawa polifenol hidrofobik yang berasal dari kunyit, memiliki berbagai aktivitas farmakologi, antara lain sebagai hepatoprotektif, antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba, dan antikanker. Namun, efektivitas terapi kurkumin terkendala bioavailabilitas oral kurkumin yang rendah dan rentan degradasi. Bioavailabilitas oral kurkumin yang rendah dikaitkan dengan buruknya kelarutan kurkumin dalam air dan tingginya efek metabolisme lintas pertama. Kurkumin larut dalam kondisi basa, namun menjadi tidak stabil dan terdegradasi dalam kondisi netral atau basa. Untuk mengatasi hal tersebut, digunakan teknologi enkapsulasi berbasis liposom yang dapat meningkatkan bioavailabilitas kurkumin. Metode terdahulu untuk membuat liposomal kurkumin adalah hidrasi lapis tipis, suatu metode yang kompleks dan memerlukan penggunaan pelarut organik. Dalam penelitian ini, digunakan metode pengaturan pH, metode bebas pelarut organik dengan teknik enkapsulasi yang mudah berdasarkan ketergantungan kelarutan kurkumin pada pH, untuk meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas. Liposom kurkumin dipreparasi menggunakan phospholipon 90 H dan soya lecithin sebagai fosfolipid. Karakterisasi liposom kurkumin meliputi ukuran partikel, struktur mikro, efisiensi penjerapan, spektrum inframerah, pengaruh kekuatan ionik terhadap stabilitas, serta stabilitas penyimpanan. Liposom kurkumin yang dihasilkan memiliki ukuran partikel $77,85 \pm 0,39$ nm, stabil selama 30 hari penyimpanan, serta memiliki efisiensi penjerapan $60,71 \pm 0,20\%$, lebih tinggi dibandingkan dengan liposom kurkumin yang dipreparasi dengan metode hidrasi lapis tipis. Metode pengaturan pH merupakan metode yang menjanjikan dalam menyiapkan liposom kurkumin untuk meningkatkan stabilitas dan efisiensi penjerapan.
Kata kunci: Kurkumin; Liposom; Phospholipon 90 H; Soya lecithin; Metode pengaturan pH

NLM: QV 84

Rela Sonia, Yusnelti, Fitrianiingsih (Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia; Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia)

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* (Linn.) sebagai Antihiperurisemia
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2):130-139

Abstrak

Daun durian (*Durio zibethinus* (Linn.)) diketahui mampu menghambat kerja dari enzim xantin oksidase yang dapat mengurangi pembentukan asam urat dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun durian dalam menurunkan kadar asam urat pada mencit yang dibuat hiperurisemia dengan diinduksi jus hati ayam 0,2 mL/20 gBB dan kalium oksonat 250 mg/kgBB. Mencit yang digunakan adalah mencit dengan kadar asam urat di atas 3,3 mg/dL atau 6,2-7,1 mg/dL. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan, masing-masing ulangan terdiri dari 3 mencit. Kelompok perlakuan adalah K+= Allopurinol 10 mg/kgBB; K-= CMC-Na 0,5%; P1= ekstrak 50 mg/kgBB; P2= ekstrak 100 mg/kgBB; P3= ekstrak 200 mg/kgBB; P4= ekstrak 250 mg/kgBB. Pengukuran kadar asam urat dilakukan pada H-0 dan H-6 setelah induksi diet tinggi asam urat, serta H-15 setelah pemberian perlakuan masing-masing kelompok. Data dianalisis dengan uji *One Way Anova* dan uji lanjut *Post Hoc Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun durian mampu menurunkan kadar asam urat di dalam darah mencit dengan persentase penurunan tertinggi terdapat pada kelompok P2 (100 mg/kgBB) sebesar 40,53%, diikuti dengan P1 (50 mg/kgBB) sebesar 38,68%. Persentase penurunan kadar asam urat terendah terdapat pada kelompok P4 (250 mg/kgBB) sebesar 22,36%, diikuti dengan kelompok P3 (200 mg/kgBB) sebesar 27,71% dan nilai ED50 terdapat pada dosis 61,65 mg/KgBB. Ekstrak etanol daun durian berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar asam urat total pada mencit dan memiliki potensi sebagai obat antihiperurisemia.

Kata kunci: Antihiperurisemia; Ekstrak etanol daun durian; In vivo

NLM: QV 84

Irawati Hamdani, Salfauqi Nurman (Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ubudiyah Indonesia, Banda Aceh, Indonesia; Program Studi Teknis Industri Pertanian, Universitas Serambi Mekkah, Banda Aceh, Indonesia)

Ekstrak Etanol Kopi Hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) sebagai Antihiperglikemi pada Mencit (*Mus musculus*)
Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2020;10(2):140-147

Abstrak

Diabetes melitus merupakan penyakit dengan kadar glukosa darah yang melebihi batas normal. Senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa darah adalah asam klorogenat yang terdapat pada kopi hijau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan monohidrat. Metode

penelitian yang digunakan adalah *True Experimental Laboratories* dengan analisis kadar asam klorogenat menggunakan Spektrofotometer UV-Vis serta rancangan penelitian *Post test Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan, terdiri dari kontrol negatif (aquadest), dosis I (100 mg/kg BB), dosis II (200 mg/kg BB), dosis III (300 mg/kg BB), dosis IV (400 mg/kg BB), dan kontrol positif (metformin). Kadar glukosa darah mencit diukur pada hari ke-0, ke-7, dan ke-21. Data dianalisis menggunakan program SPSS dengan uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov), uji homogenitas (Levene Test), dan uji statistik parametrik (*One-Way ANOVA*). Hasil penelitian menghasilkan data terdistribusi normal dan homogen ($P > 0,05$) dengan beberapa pasang data yang berbeda bermakna ($P > 0,05$) pada kelompok perlakuan. Kadar asam klorogenat dalam ekstrak kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) adalah 4,235%, dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit sebesar 10,72% (dosis I); 19,85% (dosis II); 27,20% (dosis III); dan 31,60% (dosis IV) dengan dosis IV sebagai dosis efektif.

Kata Kunci: Kopi Arabika; Klorogenat; Glukosa darah; Antihiperglikemi



NLM : QV 84

Wahyu Hidayati, Landyyun Rahmawan Sjahid, Wahyu Ismalasari, Kusmardi Kusmardi
(Faculty of Pharmaceutical and Science, Muhammadiyah University of Prof. DR. Hamka, Jakarta, Indonesia. Pathology and Anatomy Department, Faculty of Medicine, University of Indonesia, Jakarta, Indonesia)

The Potency of 96% Ethanol Extract of Indonesian Bay Leaves (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) on p53 Expression on HeLa Cell Lines
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):79-86

Abstract

Bay leaves (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) have been utilized as one of traditional medicines in Indonesian. However, the potency of the leaves for cancer treatment has not been well-explored. The aim of this study is to determine the expression of p53 tumor suppressor gene after administration of 96% ethanol extract of Bay leaves on HeLa cell lines. This study is begin by making extract using ethanol 96% as a solvent followed by phytochemical screening and extract evaluation of HeLa cells by immunohistochemistry. The observation of p53 protein expression is conducted using the Image J Profiler Plugin software 1.52a version. The H-score data is processed using the One-Way ANNOVA IBM SPSS 20 version program and continued with Post Hoc analysis using the Duncan test. The identification of 96% ethanol extract result showed that bay leaves contain flavonoids, alkaloids, saponins, phenols, terpenoids, and steroids. Based on the Post Hoc test results, the administration of 96% ethanol extract bay leaves with three dose variations (156 µg/ml, 234 µg/ml, 312 µg/ml) and negative control had significant differences, while the high dose (312 µg/ml) had not significant differences to positive control. The result showed that 96% ethanol extract of bay leaves by the dose of 312 µg/ml can inhibit the expression of mutant p53 protein in cervical cancer cells HeLa cell line.

Keywords: Cervical cancer; p53; Ethanolic extract; *Syzigium polyanthum*

NLM : QV 766

Nunung Yulia, Adi Wibowo, Eva Dania Kosasih

(Department of Pharmacy, Health Poltekkes, Ministry of Health, Tasikmalaya, West Java, Indonesia.)

Characteristics of Cassava Probiotik Drinks of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus* Culture
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):87-94

Abstract

Functional foods are food that consumed, as usual, has a physiological effect and can reduce the effect of chronic disease. One of them is probiotic beverages. Probiotic beverages that have been widely known overtime was produced by a dairy house. This product could have been expensive due to the cost of raw materials. The alternative raw material such as the use of extracted cassava juice may reduce the price of the final product. The aims of this research were to study the effects of culture comparison between characteristics of the probiotic beverage from cassava juice, and get the best culture comparison that produces the best probiotic characteristics of the lactic beverage fermentation from cassava juice. This research applied qualitative experiment method in *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophiles* as an inoculum evaluated. Serial in culture ratio respectively 20:50; 30:50; 40:50; and 50:50. The observed research were pH value, viscosity, total lactic acid bacteria (LAB) and activities test against bacteria *Escherichia coli*. The result showed that the best culture comparison qualified as probiotics criteria was 50:50. It was having pH value 4,1; viscosity 0,706g/mL; total LAB 2,1x10⁶ cfu/mL and activity bacteria *Escherichia coli* was 5,3mm.

Keywords: Probiotic drinks; Cassava; *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*

NLM : QV 233

Suci Nar Vikasari, Faizal Hermanto, Elivas Simatupang, Afifah Bambang Sutjiatmo, Titta Hartyana Sutarna, Ririn Puspawati, Lucky Rachmawan, Fahmi Ahsanul Haq

(Pharmaceutical Program, Faculty of Pharmacy, Ahmad Yani General University, Cimahi, West Java, Indonesia. Center for Research and Development of Cimahi City, Cimahi, West Java, Indonesia)

Iritation Effect of Bar Soap Containing Milk Produced by Small and Medium Enterprises in Cimahi
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):95-101

Abstract

One of the ways to increase profit in small and medium business (UKM) in Cimahi is by diversifying its products, through manufacturing of bar soap derived from cow's milk from UKM. The requirement of bath soap is proper acidity (pH) level, otherwise it will make the skin dry, itchy or even increase irritation. Therefore, this *in vivo* non-clinical irritation evaluation is conducted to evaluate the effects of bar soap produced by UKM in Cimahi according to the guidelines in rat test animals. The animals is divided into five groups and exposed to soap for four hours. Five soap samples is obtained from UKM in Cipageran area, Cimahi. Observations is made at the hours of 1, 4, 24, 48, and 72 hours after exposure and is continued for 14 days. The measured parameters is erythema and edema, and the primary irritation index. The results showed that bar soap containing cow milk produced by UKM in Cimahi did not cause erythema and edema. Primary irritation index of all bath soap samples was 0.0. It can be concluded that soap bars containing cow's milk produced by Cimahi City UKM did not cause irritation

Keywords: Soap bar; Milk; *In vivo*; Irritation

NLM : QU 55.7

Bambang Hernawan Nugroho, Multi Tri Wardani, Suparmi

(Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Science, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia. Nanopharmacy Reseach Center, Department of Pharmacy, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia)

Comparison of Aeration and Ultra-sonication Techniques for Ionic Gelation Nanoparticle Dexamethasone Sodium Phosphate
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):102-109

Abstract

Alginate, biocompatible and biodegradable natural polymers have been widely used as drug molecular carriers using ionic gelation methods (crosslinking). One of the factors that must be taken into account in preparation of it is a mechanical effect. The purpose of this study was to explain the preparation process and the characteristics of the calcium alginate crosslinkers as dexamethasone sodium phosphate carriers with low energy and high energy techniques. Nanosuspension is made in six formulas using 3 techniques: low energy (aeration), high energy (ultrasonication), low and high energy (aeration and ultrasonication) with a fixed concentration of dexamethasone sodium phosphate and sodium alginate, that is 0,2% and 0,1%, with 0,02% and 0,2% of calcium chloride. Determination of particle size, zeta potential, and morphology of nanoparticles using Particle Size Analyzer (PSA) and Scanning Electron Microscope (SEM), Transmission Electron Microscope (TEM). Determination of

encapsulation efficiency using UV/Vis spectrophotometer and statistical analysis using MANOVA test. Synthesis of nanosuspension using a combination of low and high energy (aeration and ultrasonication) results in the most optimal characteristics with particle size value of 352.90 ± 6.10 nm, homogenized polydispersity index ($0,52 \pm 0,04$), optimal potential zeta $-44,40 \pm 0,4$ mV, the encapsulation efficiency of 49,5 - 74,8% and spherical particle shape. It can be concluded that the preparation using a combination of low and high energy is the most optimal preparation result.

Keywords: Alginate; Ionic gelation; Dexamethasone sodium phosphate; Aeration; Ultrasonication

NLM : QV 766

Febia Arien Lestari, Wahida Hajrin, Nisa Isneni Hanifa

(Pharmaceutical Program, Faculty of Medicine, Mataram University, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia)

Cream Formula Optimization of Extract Katuk Leave (Sauropus Androgynus) Variation in Stearic Acid, Triethanolamine, and Glycerin Concentration
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):110-119

Abstract

Sauropus androgynus (L.) Merr.) contain secondary metabolite compounds: flavonoids and polyphenols which has bioactivity as antioxidants. Antioxidants act as photoprotector, so it can be formulated into sun protection product. The selection of cream base is very important due to it's not only as vehicle of active ingredients but also affecting cream's physical properties and effectiveness. This study aims to determine the composition of the optimum base formula and evaluation formula cream of extract katuk leaves with variations concentration of stearic acid, TEA, and glycerin. Formula optimization was conducted through the Simplex Lattice Design methode with 13 formulas. The results of evaluation were processed with Design Expert software. The optimum formula was respectively at 13.16% stearic acid, 12% glycerin, and 3.84% TEA. The optimum formula cream evaluation was spreadability in 4.89 cm, 0.56 s stickiness power, and pH 6,1. Acceptability test results showed that the cream could accepted by society very well.

Keywords: Katuk leave; Cream; Simplex Lattice Design; Design Expert

NLM : QU 93

Fransiska Christydira Sekaringtyas, Swasmi Purwajanti, Etik Mardliyati, Sri Ningsih

(Center for Pharmaceutical and Medical Technology, Agency for The Assessment and Application of Technology, South Tangerang, Banten, Indonesia)

Preparation of Curcumin-Liposomes using pH-Driven Method to Enhance Stability and Encapsulation Efficiency
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):120-129

Abstract

Curcumin, a hydrophobic polyphenol, derived from turmeric, has numerous pharmacological activities, including hepatoprotective, antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anticarcinogenic. However, the therapeutic efficacy of curcumin is limited due to its poor oral bioavailability and high susceptibility to degradation. The poor oral bioavailability of curcumin has been attributed to its poor aqueous solubility and extensive first pass metabolism. Curcumin dissolves in alkaline conditions but it is highly unstable undergoing rapid hydrolytic degradation in neutral or alkaline condition. To solve these problems, liposome-based encapsulation technology is applied to improve the bioavailability of curcumin. The existing method to prepare curcumin-liposome, thin-film method, is complex and usually required the use of organic solvents. In this study, pH-driven method, an organic solvent-free and easily encapsulation technique utilizing the pH-dependent solubility of curcumin was proposed to improve the stability and bioavailability. Curcumin-liposomes were prepared using phospholipon 90 H and soya lecithin as phospholipid sources. The characterizations of curcumin-liposomes include particle size, microstructure, encapsulation efficiency, infrared spectra, salt stability and storage stability. The particle size measured was 77.85 ± 0.39 nm. It was found that curcumin-liposomes prepared by the pH-driven method was stable during storage for 30 days and gave encapsulation efficiency of $60.71 \pm 0.20\%$, higher as compared to the ones prepared by thin-film method. In conclusion, pH-driven is a promising method for the preparation of curcumin-liposomes to enhance stability and encapsulation efficiency

Keywords: Curcumin; Liposome; Phospholipon 90 H; Soya lecithin; pH-driven method

NLM : QV 84

Rela Sonia, Yusnelti, Fitrianiingsih

(Pharmaceutical Program, Faculty of Science and Technology, Jambi University, Jambi, Indonesia. Chemistry Education Program, Faculty of Teaching and Education, Jambi University, Jambi, Indonesia)

The Effectivity of Ethanol Extracts of Durio zibethinus (Linn.) Leaves as Antihyperuricemia
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):130-139

Abstract

Durian (*Durio zibethinus* Linn.) leaves are known to inhibit the xanthine oxidase enzyme which can reduce uric acid levels in the blood. The purpose of study is to

determine the effectiveness of ethanol extracts of durian leaves in reducing uric acid levels in hyperuricemic mice. The mice were induced with chicken's liver juice 0,2 mL/20 gBW and potassium oxonate 250 mg/kgBW. The animals were mice with uric acid levels above 3,3 mg/dL or 6,2-7,1 mg/dL. The study was used a completely randomized design (CRD) with six treatments and three replications, with three mice in each replications. The treatments group were K+: Allopurinol 10 mg/kgBW; K-: CMC-Na 0.5%; extracts in group P1, P2, P3, P4 are 50; 100; 200; 250 mg/kgBW.. The measurements of uric acid levels were performed on day-0, day-6 after induction, and day-15 after administering each group. The data obtained were analyzed by One Way Anova test followed by Duncan's Post Hoc further test. The results showed that durian leaves could reduce uric acid levels in mice blood with the highest percentage reduction was in P2 (100 mg/kgBW) group of 40,53%, followed by P1 (50 mg/kgBW) of 38,68%. The lowest percentage was in the P4 group (250 mg/kgBW) of 22,36%, followed by the P3 group (200 mg/kgBW) of 27,71% and the ED₅₀ value was 61,65 mg/kgBW. In conclusion, ethanol extracts of durian leaves has a significant effect on decreasing total uric acid levels in mice and has potential as an antihyperuricemia agent.

Keywords: Antihyperuricemia; Ethanol extracts of durian leaves; In vivo

NLM : QV 84

Irawati Hamdani, Salfauqi Nurman

(Pharmaceutical Program, Faculty of Health Science, University of Ubudiyah Indonesia, Banda Aceh, Indonesia. Agriculture Industry Technical Program, University of Serambi Mekkah, Banda Aceh, Indonesia)

Ethanol Extract of Arabica (Coffea arabica L.) Green Coffee as Antihyperglycemia in Mice (Mus musculus)
The Indonesian Pharmaceutical Journal. 2020; 10(2):140-147

Abstract

Diabetes mellitus is an excessive level of blood sugar concentration disease. One of the compounds that can moderate the blood sugar level is chlorogenic acid that mostly found in green coffee. This study aims to determine the extract activity of Arabica (*Coffea arabica* L.) green coffee in decreasing the blood sugar level of mice (*Mus musculus*) that induced by alloxan monohydrate. The method is True Experimental Laboratories with the analysis of chlorogenic acid levels using a UV-Vis spectrophotometer. The research design is Post Test Control Group Design, using 24 mice that divided into six treatment groups. The groups consist of negative control (distilled water), Dose I (100 mg/kg bw), Dose II (200 mg/kg bw), Dose III (300 mg/kg bw), Dose IV (400 mg/kg bw), and positive control (metformin). Blood sugar levels of the mice is measured at the intervals of 1st day, 7th day, 21st day. The data is analyzed using the SPSS program with

normality tests (Kolmogorov-Smirnov), homogeneity tests (Levene Test), and parametric statistical tests (One-Way ANOVA). The data results was normally distributed and homogeneous ($P > 0.05$) with several pairs of data in the treatment group were significantly different ($P > 0.05$). The extract of Arabica (*Coffea arabica* L.) green coffee contained 4.235% chlorogenic acid, could reduced the hyperglycemia mice blood sugar levels by the dose of 10.72% (Dose I); 19.85% (Dose II); 27.20% (Dose III); and 31.60% (Dose IV) with dose IV as the effective dose.

Keywords: *Arabica Coffee; Chlorogenic; Blood Sugar; Antihyperglycemia*

Jurnal Kefarmasian Indonesia

The Indonesian Pharmaceutical Journal

Vol. 10 No. 2-Agustus 2020

DAFTAR ISI

Potensi Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (<i>Syzigium polyanthum</i> Wight. (Walp.)) terhadap Ekspresi p53 pada Sel Kanker HeLa Cell Lines Wahyu Hidayati, Landyyun Rahmawan Sjahid, Wahyu Ismalasari, Kusmardi Kusmardi	79 – 86
Karakteristik Minuman Probiotik Sari Ubi Kayu dari Kultur Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> dan <i>Streptococcus thermophilus</i> Nunung Yulia, Adi Wibowo, Eva Dania Kosasih	87 – 94
Efek Iritasi Sabun Mandi Batang Mengandung Susu Produk Usaha Kecil Menengah di Kota Cimahi Suci Nar Vikasari, Faizal Hermanto, Elivas Simatupang, Afifah Bambang Sutjiatmo, Titta Hartiyana Sutarna, Ririn Puspawati, Lucky Rachmawan, Fahmi Ahsanul Haq	95 – 101
Perbandingan Teknik Aerasi dan Ultrasonikasi Gelasi Ionik Nanopartikel Deksametason Natrium Fosfat Bambang Hernawan Nugroho, Multi Tri Wardani, Suparmi	102 – 109
Optimasi Formula Krim Ekstrak Daun Katuk (<i>Sauropus Androgynus</i>) Variasi Konsentrasi Asam Stearat, Trietanolamin, dan Gliserin Febia Arien Lestari, Wahida Hajrin, Nisa Isnani Hanifa	110 – 119
Preparation of Curcumin-Liposomes using pH-Driven Method to Enhance Stability and Encapsulation Efficiency Fransiska Christydira Sekaringtyas, Swasmi Purwajanti, Etik Mardiyati, Sri Ningsih	120 – 129
Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Durian (<i>Durio zibethinus</i> (Linn.)) sebagai Antihiperurisemia Rela Sonia, Yusnelti, Fitrianiingsih	130 – 139
Ekstrak Etanol Kopi Hijau Arabika (<i>Coffea arabica</i> L.) sebagai Antihiperqlikemi pada Mencit (<i>Mus musculus</i>) Irawati Hamdani, Salfauqi Nurman	140 – 147

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

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Kementerian Kesehatan RI

Jl. Percetakan Negara No.23 Jakarta 10560

Potensi Ekstrak Etanol 96% Daun Salam (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) terhadap Ekspresi p53 pada Sel Kanker HeLa Cell Lines

The Potency of 96% Ethanol Extract of Indonesian Bay Leaves (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) on p53 Expression on HeLa Cell Lines

Wahyu Hidayati¹, Landyyun Rahmawan Sjahid¹, Wahyu Ismalasari¹, Kusmardi Kusmardi^{2*}

¹Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka, Jakarta, Indonesia

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

*E-mail: kusmardi_ms@ui.ac.id

Diterima: 15 Juli 2019

Direvisi: 24 Maret 2020

Disetujui: 6 April 2020

Abstrak

Daun salam (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) telah digunakan sebagai salah satu obat tradisional di Indonesia, akan tetapi eksplorasi daun salam terhadap sel kanker belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol 96% daun salam dalam meningkatkan ekspresi p53 pada sel kanker serviks HeLa cell lines. Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dilanjutkan dengan penapisan fitokimia, dan uji ekstrak terhadap sel HeLa dengan metode imunohistokimia. Pengamatan ekspresi protein p53 dilakukan menggunakan software ImageJ Profiler Plugin versi 1.52a. Data H-score diolah menggunakan One-Way ANNOVA program IBM SPSS versi 20 dan dilanjutkan dengan analisis Post Hoc menggunakan Duncan test. Identifikasi ekstrak etanol 96% daun salam mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, terpenoid, dan steroid. Berdasarkan hasil uji Post Hoc, pemberian ekstrak etanol 96% daun salam dengan tiga variasi dosis (156 µg/ml, 234 µg/ml, 312 µg/ml) dan kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan, sedangkan dosis tinggi (312 µg/ml) tidak berbeda nyata terhadap kontrol positif. Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak etanol 96% daun salam pada dosis 312 µg/ml dapat menghambat ekspresi protein p53 mutan pada sel kanker serviks HeLa cell lines.

Kata kunci: Kanker serviks; p53; Ekstrak etanol; *Syzigium polyanthum*

Abstract

Bay leaves (*Syzigium polyanthum* Wight. (Walp.)) have been utilized as one of traditional medicines in Indonesian. However, the potency of the leaves for cancer treatment has not been well-explored. The aim of this study is to determine the expression of p53 tumor suppressor gene after administration of 96% ethanol extract of Bay leaves on HeLa cell lines. This study is begin by making extract using ethanol 96% as a solvent followed by phytochemical screening and extract evaluation of HeLa cells by immunohistochemistry. The observation of p53 protein expression is conducted using the Image J Profiler Plugin software 1.52a version. The H-score data is processed using the One-Way ANNOVA IBM SPSS 20 version program and continued with Post Hoc analysis using the Duncan test. The identification of 96% ethanol extract result showed that bay leaves contain flavonoids, alkaloids, saponins, phenols, terpenoids, and steroids. Based on the Post Hoc test results, the administration of 96% ethanol extract bay leaves with three dose variations (156 µg/ml, 234 µg/ml, 312 µg/ml) and negative control had significant differences, while the high dose (312 µg/ml) had not significant differences to positive control. The result showed that 96% ethanol extract of bay leaves by the dose of 312 µg/ml can inhibit the expression of mutant p53 protein in cervical cancer cells HeLa cell lines.

Keywords: Cervical cancer; p53; Ethanolic extract; *Syzigium polyanthum*

PENDAHULUAN

Pada tahun 2018, secara global, diperkirakan sebanyak 18,1 juta kasus kanker dengan jumlah kematian sebesar 9,6 juta. Pada wanita, kanker serviks menduduki peringkat ke-4 dunia dengan angka kejadian 6,6% dan angka kematian 7,5%.¹ Secara nasional, pada tahun 2018, kanker serviks berada pada urutan kedua penyakit kanker yang terjadi pada wanita, baik pada jumlah kejadian maupun angka kematian. Jika dibandingkan dengan kanker payudara, persentase angka kejadian kanker serviks 7,4% lebih rendah sedangkan persentase *case fatality rate* kanker payudara lebih tinggi daripada kanker serviks (8%).²

Kanker leher rahim atau kanker serviks merupakan penyakit kanker yang disebabkan oleh infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV).³ Infeksi HPV mampu menstimulasi proses karsinogenesis pada sel epitel serviks melalui HPV-Encoded viral oncoproteins, E6 dan E7, yang akan menghambat aktivasi dari *tumor suppressor gene*.⁴ Salah satu *tumor suppressor gene* adalah p53 yang dapat mengendalikan mekanisme apoptosis pada sel. Mekanisme lain yang dilakukan oleh p53 untuk mencegah terjadinya pertumbuhan tumor dengan meningkatkan ekspresi protein p53 pada akhir fase G1 pada sel yang mengalami transformasi. Hal ini dilakukan sebagai respon akibat adanya kondisi tidak normal pada suatu sel sehingga sel tersebut tidak dapat melanjutkan proses siklus sel akibat terhambatnya tahap interfase.⁵

Brown dan Wouters melaporkan bahwa p53 dapat digunakan untuk mengetahui sensitivitas sel kanker. Penelitian tersebut menginisiasi berbagai penelitian yang bertujuan untuk mengembangkan terapi kanker dan menemukan obat kanker.⁶ Penelitian ini merupakan bagian dari sebuah penelitian yang melakukan eksplorasi daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight. (Walp.)) terhadap pertumbuhan sel kanker, salah satunya sel kanker serviks. Daun Salam telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan pelengkap dan penyedap alami pada masakan karena aromanya yang khas. Namun, selain manfaatnya sebagai penyedap

makanan, daun salam ternyata juga menyimpan banyak manfaat lain bagi kesehatan.⁷

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol 96% dalam menghambat pertumbuhan kanker serviks dengan mengamati ekspresi p53 pada sel HeLa. Hasil penelitian diharapkan mampu memberikan informasi mengenai potensi daun salam sebagai antikanker.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui ekspresi p53 pada kanker serviks secara *in vitro* menggunakan metode imunohistokimia.

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain inkubator CO₂ (CP 80L KWF), *waterbath* (H-WBE-8L), *rotary evaporator* (Eyela N-1100), timbangan analitik (Ohaus), mikroskop (Olympus CX23), UV-Box (Camag).

Bahan-bahan yang digunakan antara lain sel kanker serviks HeLa yang didapatkan dari Laboratorium Bioassay Departemen Kimia Kedokteran Universitas Indonesia, daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) yang didapatkan dari BALITRO dan telah dilakukan determinasi di Herbarium Bogoriense Bidang Botani (Pusat Penelitian Bogor, LIPI Cibinong), etanol 96% pa (Merck), plat kromatografi lapis tipis (KLT) GF254 (Merck), n-heksan, etil asetat, metanol, kloroform, pereaksi sitroborat, pereaksi Dragendorff, pereaksi vanillin-asam sulfat, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi FeCl₃. Kontrol negatif dalam penelitian ini adalah kultur sel dalam medium komplit tanpa ditambahkan ekstrak etanol 96% daun salam. Cisplatin dari Dankos sebagai kontrol positif, *Phospat Buffer Saline* (PBS) (Sigma), medium kultur Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Gibco), dimetilsulfoksida (DMSO) ACS grade (Biomatik), Anti-p53 *antibody* [PAb 240] ab26 (Abcam) sebagai antibodi primer, *Mouse PolyVue Plus*TM HRP *Detection System* dari *Diagnostic*

BioSystems sebagai antibodi sekunder, 3,3 diamino-benzidine (DAB) dari DAKO, streptavidin (DAKO terkonjugasi HRP), hematoksilin harris (Merck).

Prosedur kerja

Ekstraksi dengan metode maserasi

Tahap ini dilakukan dengan mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Hanani dan Hanani dkk dengan modifikasi pada bobot serbuk simplisia yang digunakan. Sebanyak 330 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam maserator, lalu ditambahkan etanol 96% sebanyak 330 ml. dan direndam selama 18 jam. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40-50 °C hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian diuapkan pada *waterbath* dengan suhu 40-50 °C menggunakan cawan uap hingga diperoleh ekstrak kering.^{8,9}

Penapisan fitokimia dengan KLT

Identifikasi flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dilakukan menggunakan fase n-heksan:etil asetat (4:6) dengan pereaksi semprot sitroborat. Sampel dinyatakan positif mengandung flavonoid jika berwarna kuning kehijauan.¹⁰

Identifikasi steroid/terpenoid

Pemeriksaan steroid dan terpenoid dilakukan menggunakan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:9) dengan pereaksi semprot Liebermann-Burchard. Sampel dikatakan positif mengandung steroid jika terbentuk warna biru dan dinyatakan positif mengandung terpenoid jika terbentuk warna merah.^{11,12}

Identifikasi fenol

Pemeriksaan fenol dilakukan menggunakan fase gerak metanol:kloroform (9:1) dengan pereaksi semprot FeCl₃ 5%. Sampel dinyatakan positif mengandung fenolik jika terbentuk warna biru sampai hitam setelah penyemprotan.⁸

Identifikasi alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dilakukan menggunakan fase gerak etil

asetat:kloroform (6:4) dengan pereaksi semprot Dragendorff. Sampel dikatakan positif mengandung alkaloid jika terbentuk warna coklat atau jingga.¹¹

Identifikasi saponin

Pemeriksaan saponin dilakukan menggunakan fase gerak kloroform:metanol:air (9:5:1) dan dideteksi dengan pereaksi vanillin-asam sulfat, dan akan memberikan warna biru sampai biru violet pada sinar tampak.¹³

Pengujian ekspresi p53 dengan metode imunohistokimia

Tahap uji imunohistokimia ini dilakukan sesuai dengan prosedur yang dilakukan oleh Hanifah dkk dengan modifikasi pada antibodi primer yang digunakan.¹⁴ Uji aktivitas dilakukan secara triplo terhadap semua perlakuan (kontrol negatif, kontrol positif, dan ekstrak). Sebanyak 1,35 ml sel HeLa ditempatkan ke dalam cawan petri yang sudah memiliki kaca obyek steril kemudian dihomogenkan dengan memutar cawan petri yang membentuk angka 8, dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Masing masing ekstrak daun salam (156 µg/ml; 234 µg/ml; dan 312 µg/ml) ditambahkan ke sel dan diinkubasi selama 24 jam. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur sel dalam medium komplit tanpa ditambahkan ekstrak etanol 96% daun salam. Setelah inkubasi, sel-sel dicuci dengan larutan PBS. Sel-sel kemudian difiksasi dengan meneteskan metanol absolut pada permukaan *object glass* dan didiamkan selama 10 menit. Peroksidase endogen dihentikan aktivitasnya dengan meneteskan larutan hidrogen peroksidase (H₂O₂) 3% ke permukaan *object glass*. *Object glass* tersebut kemudian dicelupkan dalam buffer sitrat 0,01 M (pH 6) dan diteteskan dengan *prediluting blocking serum*. Selanjutnya sel-sel HeLa pada *object glass* direaksikan dengan antibodi anti-p53 dalam PBS dan diinkubasi semalaman. Setelah inkubasi tersebut, sel-sel direaksikan dengan antibodi sekunder

Mouse PolyVue Plus™ HRP Detection System dan diinkubasi selama 10 menit kemudian diinkubasi selama 3-8 menit pada streptavidin-HRP conjugated. Sel-sel kemudian dilakukan pencucian dengan air suling dan ditambahkan dengan larutan hematoxylin harris.

Pengamatan ekspresi protein p53

Ekspresi protein p53 diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan tingkat ekspresi protein diamati dengan menggunakan software ImageJ Profiler Plugin 1.52a version.^{15,16} Data yang diperoleh kemudian dikalkulasi untuk mendapatkan nilai H-score dengan persamaan sebagai berikut :

$$H\text{-score} = (Ax1) + (Bx2) + (Cx3)$$

Keterangan :

A : nilai log *low positif*

B : nilai log *positive*

C : nilai log *high positive*

Arti dari nilai log tersebut adalah Nilai *log low positive* menunjukkan tingkat ekspresi yang lemah, *positive* mengindikasikan tingkat ekspresi protein sedang, dan tingkat ekspresi yang tinggi ditunjukkan oleh nilai *log high positive*.

Analisa data

Data H-score yang diperoleh dari uji imunohistokimia dianalisis menggunakan *One-Way ANNOVA* pada program IBM SPSS 20 version yang dilanjutkan dengan analisa

Post Hoc menggunakan *Duncan test*. Signifikansi perbedaan antar perlakuan ditentukan jika nilai $P \leq 0.05$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi serbuk daun salam

Ekstraksi daun salam menghasilkan ekstrak kental sebesar 33,69 gram dengan rendemen 10,21%. Penelitian ini menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak kental dikarenakan metode ini menggunakan alat yang sangat sederhana dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya yang membutuhkan alat khusus untuk dapat memperoleh ekstrak. Selain itu, metode ini juga sangat mudah dilakukan yaitu hanya dengan merendam serbuk simplisia pada larutan tertentu secara berulang.⁸

Penapisan senyawa metabolit sekunder dengan KLT

Pada penelitian ini kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder daun salam. Ini sesuai dengan peneliti sebelumnya yang menyatakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu simplisia dapat diketahui melalui pola kromatogram yang terbentuk pada plat KLT.^{8,17} Hasil identifikasi ekstrak etanol 96% daun salam mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, terpenoid, dan steroid (Tabel 1).

Tabel 1. Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol 96% daun salam

Jenis Identifikasi	Pereaksi	Hasil
Flavonoid	Sitroborat	(+)
Alkaloid	Dragendorf	(+)
Saponin	Vanilin Asam Sulfat	(+)
Fenol	FeCl ₃	(+)
Terpenoid	Lieberman-Bunchard	(+)
Steroid	Lieberman-Bunchard	(+)

Elya dkk dan Ismail dkk juga melaporkan bahwa daun salam mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, seperti senyawa

fenol (*pyrogallol, caffeic acid, gallic acid*), terpenoid (*squalene, azulene, farnesol, α-copaene, α-pinene, α-*

panasine, α -humulene, linalool, valencene), asam lemak (asam palmitat, asam stearat), asam lemak ester (metil oleat, metil palmitat), diterpen alkohol (*phytol*), steroid (β -sitosterol).^{7,18}

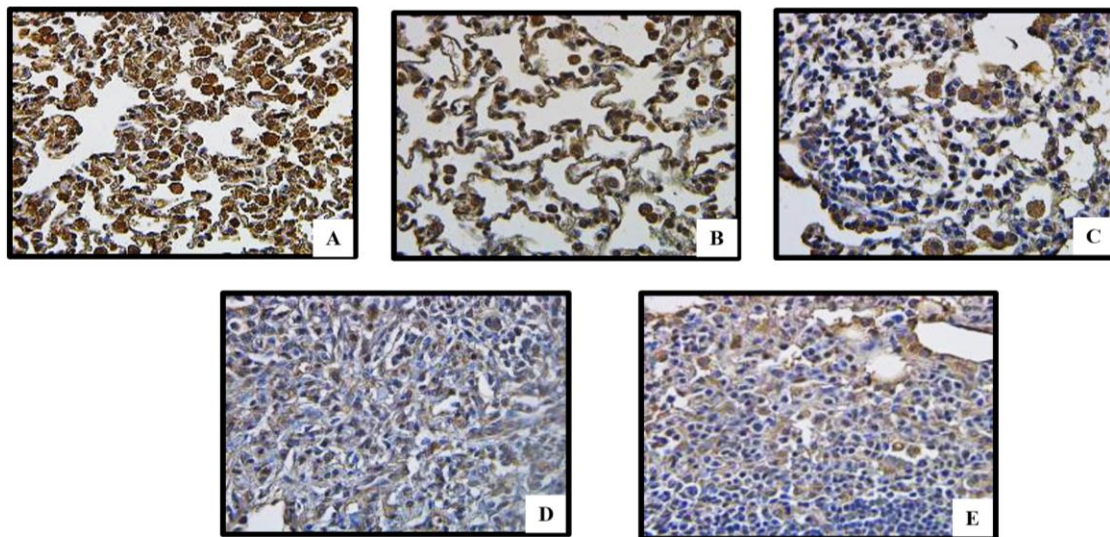
Efek pemberian ekstrak etanol daun salam terhadap ekspresi p53 pada sel HeLa

Protein p53 merupakan protein yang diekspresikan oleh gen p53 dan telah diketahui memiliki peranan penting dalam pengendalian siklus sel dan kematian sel yang terprogram.¹⁹ Selain itu, p53 juga merupakan regulator utama pada berbagai proses biologis, antara lain autofagi, diferensiasi sel, dan *tumor microenvironment remodeling*.²⁰ Adanya kegagalan ekspresi protein ini akan menyebabkan munculnya

sel-sel yang kehilangan kemampuan untuk melakukan proses kematian sel yang terprogram.

Pada penelitian ini memperlihatkan bahwa sel-sel kanker yang tidak diberi perlakuan masih dapat mengekspresikan protein p53 dengan nilai H-score tertinggi diantara sel-sel kanker yang mendapatkan perlakuan.

Tingkat ekspresi p53 pada sel HeLa setelah pemberian ekstrak etanol 96% daun salam diketahui dengan menggunakan metode imunohistokimia.¹⁴ Metode imunohistokimia yang digunakan yaitu *indirect immunohistochemistry* yang dilakukan dengan menggunakan antibodi yang berbeda dengan fungsi sebagai antibodi primer dan antibodi sekunder.^{21,22}



Gambar 1. Pengamatan ekspresi protein p53 pada sel HeLa pada perbesaran 400x.

Keterangan:

- A. Kontrol Negatif;
- B. Ekstrak etanol 96% daun salam dengan dosis 156,02 $\mu\text{g/ml}$;
- C. Ekstrak etanol 96% daun salam dengan dosis 234,03 $\mu\text{g/ml}$;
- D. Ekstrak etanol 96% daun salam dengan dosis 312 $\mu\text{g/ml}$;
- E. Kontrol Positif

Tabel 2. Hasil Uji One-Way ANOVA

Perlakuan	Rata-rata H-Score ± SD	Sig.
Kontrol Negatif	292,72 ± 2,99	
Kontrol Positif (Cisplatin 40 µg/ml)	136,96 ± 16,83	
Ekstrak Dosis Rendah (156 µg/mL)	258,18 ± 9,11	
Ekstrak Dosis Sedang (234 µg/mL)	220,22 ± 13,91	
Ekstrak Dosis Tinggi (312,045 µg/mL)	151,29 ± 7,79	0,000

Pada penelitian ini, nilai H-score tertinggi didapatkan pada kontrol negatif (292,72) dan nilai H-score terendah didapatkan pada kontrol positif (136,96) (Tabel 2). Berdasarkan hasil uji *Post Hoc*, pemberian ekstrak dengan ketiga variasi dosis dan kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan, sedangkan dosis tinggi (312 µg/ml) dengan nilai H-score sebesar 151,29 tidak berbeda nyata terhadap kontrol positif (H-score: 136,96) (Sig. <0.05). Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak etanol 96% daun salam dengan dosis tinggi dapat menghambat ekspresi protein p53 mutan pada sel kanker serviks HeLa *cell lines*.

Pengembangan terapi pengobatan kanker saat ini ditargetkan untuk dapat melakukan restorasi protein p53. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk restorasi protein p53 adalah dengan melakukan penghambatan kerja inhibitor p53.²³ Ada dua protein yang berperan sebagai inhibitor p53, yaitu *murine double minute 2* (MDM2) pada mencit atau *human double minute 2* (HDM2) pada mausia dan *murine double minute X* (MDMX) atau *human double minute X* (HDMX) pada manusia.^{23,24,25}

Nilai H-score kurang dari 200 setelah pemberian ekstrak etanol 96% dan cisplatin mengindikasikan adanya penghambatan ekspresi protein p53 mutan pada sel kanker HeLa, akan tetapi peran ekstrak tersebut terhadap mekanisme molekuler yang terjadi pada supresi p53 belum diketahui pada penelitian ini.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun salam memiliki potensi untuk dapat dijadikan sebagai agen terapi kanker serviks. Dosis 312

µg/ml ekstrak etanol 96% daun salam dapat menghambat ekspresi protein p53 mutan pada sel kanker serviks HeLa *cell lines*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait peran ekstrak etanol 96% daun salam terhadap mekanisme molekuler ekspresi p53 pada sel HeLa untuk memperkuat informasi mengenai potensi ekstrak etanol 96% daun salam sebagai agen antikanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ervina Dwi Astriani dan Dewi Ayu Mustika Sari yang telah membantu dalam pengumpulan sampel dan pembiakan sel kanker HeLa *cell lines*. Terima kasih juga kepada Kementerian Ristekdikti dalam skema Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian (PKM-P) tahun anggaran 2018/2019 dengan nomor kontrak 215/L3/KM/2019/SPK.

DAFTAR RUJUKAN

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *A Cancer Journal for Clinicians*. 2018 Nov;68(6):394–424.
2. World Health Organization. Indonesia [Internet]. Vol. 256, International Agency for Research on Cancer. 2019. Available from: <http://gco.iarc.fr/>
3. Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, Denny L. Cervical cancer. *Lancet* [Internet]. 2019;393(10167):169–82. Available from:

- [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32470-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32470-X)
4. Li S, Hong X, Wei Z, Xie M, Li W, Liu G, et al. Ubiquitination of the HPV oncoprotein E6 is critical for E6/E6AP-mediated p53 degradation. *Frontiers in Microbiology*. 2019 Oct;10(2483):1–11.
 5. Sun Z. The General information of the tumor suppressor gene p53 and the protein p53. *Journal of Cancer Prevention & Current Research*. 2015;3(1):1–13.
 6. Flores ER. Commentary on “apoptosis, p53, and tumor cell sensitivity to anticancer agents.” *Cancer Research*. 2016;76(23):6763–4.
 7. Ismail A, Wan Ahmad WAN. *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp: A potential phytomedicine. *Pharmacognosy Journal*. 2019;11(2):429–38.
 8. Hanani E. Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
 9. Hanani E, Ladeska V, Astuti AC. Pharmacognostical and phytochemical evaluation of Indonesian *Peperomia pellucida* (Piperaceae). *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*. 2017;8(1):10–7.
 10. Ahmad AR, Juwita J, Ratulangi SAD. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Science Research*. 2015;2(1):1–10.
 11. Mandal SC, Mandal V, Das AK. Qualitative phytochemical screening. in: essentials of Botanical Extraction: Principles and Applications. Academic Press; 2015. p. 173–85.
 12. Dwisari F, Harlia, Alimudin AH. Isolasi dan karakterisasi senyawa terpenoid ekstrak metanol akar pohon kayu Butabuta (*Exoecaria agallocha* L.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2016;5(3):25–30.
 13. Wardhani LK, Sulistiyani N. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil kromatografi lapis tipis. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2012;2(1):1–16.
 14. Hanifah RS, Novitarani NA, Harmen F, Tedjo A, Azizah NN, Putrianingsih R, et al. The inhibition of ethanol extract of *Phaleria macrocarpa* stem bark on COX-2 expression of HCT116 colorectal cancer cell line. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019;12(6):2902.
 15. Mane DR, Kale AD, Belaldavar C. Validation of immunoexpression of tenascin-C in oral precancerous and acancerous tissues using ImageJ analysis with novel immunohistochemistry profiler plugin: an immunohistochemical quantitative analysis. *Journal of Oral Maxillofac Pathology*. 2017;21(2):211–7.
 16. Varghese F, Bukhari AB, Malhotra R, De A. IHC profiler: an open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples. *PLoS One*. 2014;9(5).
 17. Kumar S, Jyotirmayee K, Sarangi M. Thin Layer Chromatography: a tool of biotechnology for isolation of bioactive. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*. 2013;18(1):126–32.
 18. Elya B, Handayani R, Sauriasari R, Azizahwati, Hasyiyati US, Permana IT, et al. Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts from Indonesian plants by inhibition of alpha amylase, alpha glucosidase and dipeptidyl peptidase IV. *Pakistan Journal Biological Sciences*. 2015;18(6):273–8.
 19. Cao X, Hou J, An Q, Assaraf YG, Wang X. Towards the overcoming of anticancer drug resistance mediated by p53 mutations. *Drug Resistance Updates*. [Internet]. 2020;49(100671). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1368764619300688>
 20. Napoli M, Flores ER. The p53 family orchestrates the regulation of metabolism: physiological regulation and implications for cancer therapy. *British Journal of Cancer*. [Internet]. 2017;116(2):149–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2016.384>
 21. Taylor C, Shi S-R, Barr NJ. Techniques of Immunohistochemistry: principles, pitfalls, and standardization. in: Dabbs D, editor. *Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications*. Third Edit. Saunders Elsevier; 2010.
 22. Ziaieian B, Nourse JL, Palmer T, Schwartz PH, Flanagan LA. Immunocytochemical analysis of human

- stem cells. in: Peterson S, Loring J, editors. *Human Stem Cell Manual: A Laboratory Guide* [Internet]. Second Edi. Academic Press; 2012. p. 249–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385473-5.00016-3>
23. Sanz G, Singh M, Peugeot S, Selivanova G. Inhibition of p53 inhibitors: progress, challenges and perspectives. *Journal of Molecular Cell Biology*. 2019;11(7):586–99.
 24. Pei D, Zhang Y, Zheng J. Regulation of p53: a collaboration between MDM2 and MDMX. *Oncotarget*. 2012;3(3):228–35.
 25. Karni-Schmidt O, Lokshin M, Prives C. The Roles of MDM2 and MDMX in cancer. *Annual Review of Pathology*. 2017;11:617–64.

Karakteristik Minuman Probiotik Sari Ubi Kayu dari Kultur Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*

Characteristics of Cassava Probiotik Drinks of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus* Culture

Nunung Yulia*, Adi Wibowo, Eva Dania Kosasih

Jurusan Farmasi, Politeknik Kesehatan Kemenkes Tasikmalaya, Kota Tasikmalaya, Indonesia
*E-mail:nungyulia86@gmail.com

Diterima : 25 November 2019

Direvisi:30 Mei 2020

Disetujui: 16 Juni 2020

Abstrak

Pangan fungsional merupakan pangan yang dikonsumsi sebagai makanan biasa yang memiliki manfaat fisiologis dan dapat mengurangi efek dari penyakit kronis. Salah satu produk pangan fungsional yang banyak dikonsumsi adalah minuman probiotik. Minuman probiotik yang dikenal masyarakat selama ini merupakan hasil fermentasi susu sapi sehingga relatif mahal harganya. Pemanfaatan bahan baku alternatif seperti sari ubi kayu diperlukan untuk menghasilkan produk minuman probiotik yang lebih terjangkau dan memiliki kualitas yang baik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbandingan kultur terhadap karakteristik minuman probiotik dan mendapatkan perbandingan kultur terbaik yang menghasilkan karakteristik probiotik terbaik dari minuman probiotik sari ubi kayu. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif dengan jenis bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* sebagai inokulum uji. Kultur bakteri dibuat seri perbandingan dengan sari ubi kayu yaitu 20:50, 30:50, 40:50, dan 50:50. Pengujian karakteristik yang diamati adalah nilai pH, viskositas, total bakteri asam laktat (BAL) dan uji aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan kultur dengan sari ubi kayu terbaik yang menghasilkan minuman probiotik yang memenuhi syarat sebagai kriteria probiotik adalah 50:50 dengan nilai pH yaitu 4,1; viskositas yaitu 0,706 g/mL; total bakteri asam laktat (BAL) yaitu $2,1 \times 10^6$ cfu/mL; dan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu 5,3 mm.

Kata kunci : Minuman probiotik; Ubi kayu; *Lactobacillus acidophilus*; *Streptococcus thermophilus*

Abstract

Functional foods are food that consumed, as usual, has a physiological effect and can reduce the effect of chronic disease. One of them is probiotic beverages. Probiotic beverages that have been widely known overtime was produced by a dairy house. This product could have been expensive due to the cost of raw materials. The alternative raw material such as the use of extracted cassava juice may reduce the price of the final product. The aims of this research were to study the effects of culture comparison between characteristics of the probiotic beverage from cassava juice, and get the best culture comparison that produces the best probiotic characteristics of the lactic beverage fermentation from cassava juice. This research applied qualitative experiment method in *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophiles* as an inoculum evaluated. Serial in culture ratio respectively 20:50; 30:50; 40:50; and 50:50. The observed research were pH value, viscosity, total lactic acid bacteria (LAB) and activities test against bacteria *Escherichia coli*. The result showed that the best culture comparison qualified as probiotics criteria was 50:50. It was having pH value 4,1; viscosity 0,706 g/mL; total LAB $2,1 \times 10^6$ cfu/mL and activity bacteria *Escherichia coli* was 5,3 mm.

Keywords: Probiotic drinks; Cassava; *Lactobacillus acidophilus*; *Streptococcus thermophilus*

PENDAHULUAN

Kemajuan di bidang teknologi memberikan dampak terhadap perubahan gaya hidup dan pola makan di masyarakat. Pola makan modern melalui konsumsi bahan makanan tinggi lemak dan rendah serat merupakan salah satu pemicu munculnya berbagai macam penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan. Kondisi ini membuat masyarakat menyadari akan pentingnya memilih makanan dan minuman yang tidak hanya menyediakan zat gizi namun juga memberikan pengaruh baik bagi kesehatan.¹

Pangan fungsional merupakan pangan yang secara alamiah maupun telah mengalami proses, memiliki satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian ilmiah dianggap memiliki fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan.² Salah satu produk pangan fungsional yang sering dikonsumsi yaitu minuman probiotik. Minuman probiotik adalah minuman yang mengandung bakteri asam laktat (BAL) yang menguntungkan bagi saluran pencernaan. Produk probiotik dapat menghambat bakteri patogen dan selain mempunyai nilai nutrisi yang baik, produk tersebut dianggap memberi manfaat kesehatan dan terapeutik. Manfaat ini diperoleh akibat terbawanya bakteri-bakteri hidup ke dalam saluran pencernaan yang mampu memperbaiki komposisi mikroflora usus sehingga mengarah pada dominansi bakteri-bakteri yang menguntungkan kesehatan.³

Salah satu bakteri asam laktat yang sering digunakan dalam pembuatan minuman probiotik yaitu *Lactobacillus* yang memiliki kemampuan meningkatkan pertahanan imunitas non-spesifik.⁴ *Lactobacillus* menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi dan memproduksi asam laktat sebagai produk utama dari hasil metabolismenya. Spesies *Lactobacillus* yang biasa digunakan dalam proses fermentasi yoghurt yaitu *Lactobacillus acidophilus* yang bersifat homofermentatif yakni dalam jalur

glikolisis menghasilkan hanya berupa asam laktat dan diketahui dapat meningkatkan produksi makrofag dan mengaktifkan fagosit.⁵ Spesies lain yang dapat digunakan dalam proses fermentasi yakni *Streptococcus thermophilus* yang berperan sebagai probiotik, mengurangi gejala intoleransi laktosa dan gangguan gastrointestinal lainnya. Ketika digunakan sebagai kultur campuran, kedua bakteri ini bersimbiosis mutualisme, *L. acidophilus* dilaporkan menghasilkan asam amino dan peptida pendek yang menstimulasi pertumbuhan *S. thermophilus*, sedangkan *S. thermophilus* menghasilkan asam format yang menunjang pertumbuhan *L. acidophilus*.⁶

Produk probiotik yang berkembang pesat saat ini adalah produk berbasis susu sapi dengan harga yang relatif mahal, sehingga perlu digunakan bahan alternatif dari nabati sebagai bahan baku pembuatan minuman probiotik untuk memperoleh minuman probiotik yang lebih terjangkau bagi masyarakat. Minuman probiotik berbahan nabati yang sudah diteliti diantaranya minuman fermentasi laktat sari buah nenas, minuman yoghurt dari sari kulit nenas, yoghurt sinbiotik dari ekstrak cincau hijau, minuman probiotik dari sari kurma, serta minuman probiotik buah naga merah.⁷⁻¹¹

Banyak bahan pangan yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal dengan potensi yang cukup tinggi untuk dijadikan minuman probiotik. Salah satu bahan pangan tersebut adalah ubi kayu. Ubi kayu memiliki potensi untuk dijadikan bahan baku pangan fungsional dalam pembuatan minuman probiotik (*yoghurt*) karena kandungan karbohidrat dan skopoletin sebagai komponen bioaktif yang mempunyai fungsi fisiologis bagi kesehatan. Ubi kayu juga mudah didapatkan dengan harga yang lebih murah. Sampai saat ini pemanfaatan ubi kayu sebagai pangan fungsional yang sudah diteliti diantaranya yaitu olahan ubi kayu berupa tepung dan flakes, dan pembuatan sake berbasis ubi kayu, tetapi

pemanfaatan ubi kayu sebagai probiotik belum banyak dilaporkan.^{2,12} Pengembangan minuman probiotik dari ubi kayu diharapkan dapat menambah produk minuman probiotik yang bersumber dari bahan nabati. Agar dapat dihasilkan minuman probiotik yang memenuhi syarat sebagai kriteria probiotik maka pada penelitian ini diteliti mengenai karakteristik minuman probiotik sari ubi kayu dari bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*, sehingga diharapkan dapat ditemukan perbandingan kultur dengan sari ubi kayu yang menghasilkan karakteristik minuman probiotik terbaik.

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan perbandingan kultur dengan sari ubi kayu yang menghasilkan karakteristik minuman probiotik terbaik dan mengetahui karakteristik minuman probiotik sari ubi kayu sebagai minuman probiotik.

METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Maret 2019 sampai November 2019, bertempat di Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Tasikmalaya. Proses pembuatan produk minuman probiotik sari ubi kayu dilakukan beberapa tahapan antara lain tahapan pertama adalah tahapan pemantapan pembuatan yoghurt dengan menggunakan inokulasi campuran bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*, pembuatan sari ubi kayu, kedua menguji karakteristik pada minuman probiotik sari ubi kayu dan ketiga melakukan pengujian aktivitas terhadap *Escherichia coli*.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu autoklaf (Labtech), inkubator (Memmert), *Biosafety Cabinet* (Biobase), pH meter (Hanna), Viskometer (MRC), *Colony Counter*, cawan petri, jarum ose, timbangan analitik, pinset, jangka sorong, *hotplate*, penyaring dan alat-alat gelas yang ada di

laboratorium. Bahan yang digunakan yaitu ubi kayu, aquadest, susu murni, glukosa, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophile*, dan *Escherichia coli*, dan media MRS (*Man Rogosa Sharpe*) dan Media *Nutrient Agar* (Oxoid).

Prosedur kerja

Persiapan starter

Persiapan starter dilakukan dengan metode yang dimodifikasi. Bakteri *L. acidophilus* dan *S. thermophilus* ditumbuhkan dalam medium selektif MRS (*Man Rogosa Sharpe*) agar miring steril, di inkubasi suhu 37°C, selama 24 jam. Stok kultur bakteri *L. acidophilus* dan *S. thermophilus* pada agar miring dibuat suspensi bakteri pada media MRS Broth steril. Sebanyak 40µL suspensi bakteri ditumbuhkan kedalam susu 5% (b/v) steril 10 mL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur ini disebut kultur induk. Kemudian kultur induk diinokulasikan kedalam media susu 5% (b/v) dan glukosa 3% (b/v) dalam media sari ubi kayu 50 mL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam sehingga didapat kultur antara. Selanjutnya kultur antara dibuat seri perbandingan dengan sari ubi kayu berdasarkan percobaan pendahuluan sebelumnya yaitu 20:50, 30:50, 40:50, dan 50:50 diinokulasikan sebanyak 4% (v/v) ke dalam media susu skim 5% (b/v) dengan penambahan 7,5% (b/v) glukosa dalam media sari ubi kayu 50mL. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C, sehingga didapatkan kultur kerja.⁸

Pembuatan minuman probiotik dari sari ubi kayu

Ubi kayu yang dipilih ialah ubi kayu untuk pangan konsumsi langsung dengan daging umbi berwarna putih. Ubi kayu dipisahkan dari kulitnya dan dihaluskan menggunakan parutan dan ditambah air, kemudian disaring dan dipisahkan dari ampasnya. Sari ubi kayu yang telah dipisahkan dari ampas selanjutnya di *blanching* dengan suhu 87°C selama 15 menit, kemudian didinginkan hingga suhu

kamar. Setelah dingin lalu ditambahkan susu steril sebanyak 10% (v/v) dan glukosa steril 7,5% (b/v).

Pembuatan minuman probiotik dilakukan metode yang dimodifikasi. Sari ubi kayu yang dihasilkan kemudian dilakukan fermentasi dengan penambahan kultur kerja *L. acidophilus* dan *S. thermophilus* secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam, hingga mencapai pH 3,5-4. Minuman probiotik sari ubi kayu yang telah selesai di inkubasi kemudian disimpan dalam *refrigerator* suhu 4°C.⁸

Pengujian nilai pH

Pengujian nilai pH dilakukan berdasarkan metode yang dimodifikasi. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer asam, netral, dan basa. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap sampel yang dicelupkan dalam elektroda pada pH meter dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.⁸

Uji viskositas

Spindle dipasang pada lengan *spindle*. *Spindle* dimasukkan ke dalam sampel yang diuji. Motor dihidupkan sehingga spindle berputar dan jika jarum dial menunjukkan angka stabil maka motor dimatikan. Angka yang ditunjukkan oleh jarum dial dicatat dan setiap sampel diukur 5 kali kemudian diambil rata-rata. Nilai rata-rata kekentalan produk yang diuji diperoleh dari angka rata-rata dikalikan dengan faktor pengali yang sesuai dengan kecepatan dan nomor *spindle* yang dipakai.¹³

Uji total bakteri asam laktat

Pengujian total bakteri asam laktat dilakukan dengan metode yang dimodifikasi. Sampel diambil 1 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan pepton steril (pengenceran 10⁻¹). Selanjutnya dibuat seri pengenceran dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁵. Masing-masing seri pengenceran diambil 1 mL dan dituang kedalam cawan petri yang berisi

media MRSA steril (hangat). Setelah media memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pertumbuhan koloni dicatat pada setiap cawan yang mengandung koloni. Angka *Total Plate Count* (TPC) dihitung dalam 1 mL dengan mengalikan jumlah koloni rata-rata dengan faktor pengenceran yang digunakan dengan satuan *colony forming unit/mL* atau koloni/mL.⁸

Perhitungan Jumlah Total Bakteri:

$$\text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan berdasarkan metode yang dimodifikasi. Stok biakan *Escherichia coli* standard McFarland 0,5 diinokulasi pada media Nutrient Agar dengan teknik *streaked plate*. Produk minuman probiotik diteteskan pada *paper disc* sehingga didapatkan volume sebanyak 100 µl, kemudian diletakkan pada media agar yang berisi bakteri dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 1-2x24 jam. Pengamatan dilakukan pada zona bening yang terbentuk di sekeliling *paper disc* yang merupakan zona hambatan, lalu diukur diameter terbesar dan terkecil zona.⁶

HASIL DAN PEMBAHASAN

Yoghurt merupakan susu asam yang dihasilkan dari proses fermentasi susu oleh campuran bakteri asam laktat (BAL) *thermophilic* yang akan membentuk rasa asam, aroma yang khas serta komponen-komponen pembentuk cita rasa. Dalam pembuatan minuman probiotik (yoghurt) sari ubi kayu ini, kultur bakteri yang digunakan adalah *L.acidophilus* dan *S.thermophilus*. *L.acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4-5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang

memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir. Bakteri *S.thermophilus* merupakan BAL homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utamanya.¹⁴ Media yang digunakan untuk menumbuhkan BAL yaitu Media MRS (*de Man Rogosa and Sharpe*) yang merupakan media selektif bagi kedua bakteri tersebut.

Pembuatan starter dimulai dari stok kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* yang dimasukkan kedalam media MRS Broth steril dan difermentasi pada susu sapi sebagai media. Hasil fermentasi ini disebut kultur induk. Selanjutnya dari kultur induk diinokulasikan kedalam media susu dan glukosa dalam media sari ubi kayu sehingga diperoleh kultur antara. Kultur antara dibuat seri perbandingan dengan sari ubi kayu berdasarkan uji pendahuluan sebelumnya yaitu 20:50, 30:50, 40:50, dan 50:50 dengan penambahan susu dan glukosa sehingga diperoleh kultur kerja. Hasil pembuatan kultur dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil kultur kerja

Sesuai dengan kebutuhan nutrisinya untuk pertumbuhan BAL selain glukosa atau karbohidrat, BAL juga memerlukan protein dan mineral. Hampir semua BAL hanya memperoleh energi dari metabolisme gula sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula. Untuk tetap bertahan hidup, BAL dalam pertumbuhannya memerlukan sumber nitrogen yang berupa asam amino, sumber

karbon atau energi berupa glukosa, sumber vitamin berupa vitamin B dan sumber mineral berupa Mg, Mn, dan S.¹⁵

Pembuatan sari ubi kayu dimulai dengan cara pemilihan ubi kayu yang baik, dan pemisahan sari dengan ampasnya. Sari ubi kayu yang didapatkan dilakukan *blanching* yang bertujuan untuk inaktivasi enzim dan mengurangi jumlah mikroba awal. *Blanching* merupakan suatu cara atau perlakuan pemanasan tipe pasteurisasi yang dilakukan pada suhu kurang dari 100°C selama beberapa menit, dengan menggunakan air panas atau uap.¹⁶ Sari ubi kayu yang telah *blanching* kemudian ditambahkan susu dan glukosa 7,5%. Penambahan gula (sukrosa, glukosa, laktosa dan fruktosa) disamping sebagai sumber rasa manis juga merupakan sumber energi yang baik bagi mikroorganisme dalam proses perkembangbiakan. Total BAL tertinggi diperoleh produk dengan konsentrasi sukrosa 7,5%.¹⁷ Setelah dingin dilakukan penambahan kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* secara aseptis. Gabungan antara dua isolat bakteri akan menghasilkan asam laktat yang jumlahnya lebih tinggi dibandingkan menggunakan isolat tunggal. Dengan digunakannya dua isolat bakteri, diduga metabolit yang dihasilkan akan lebih tinggi, selain itu jumlah bakteri asam laktat akan meningkat.¹⁸ Hasil pembuatan minuman probiotik sari ubi kayu dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Minuman probiotik sari ubi kayu

Tabel 1. Karakteristik minuman probiotik sari ubi kayu

Sampel	pH	Viskositas	Total bakteri asam laktat (CFU/mL)	Organoleptis			
				Rasa	Aroma	Tekstur	Warna
20:50	5,0	0,966 g/mL	8×10^4	Asam	Khas	Cair	Putih
30:50	4,7	0,873 g/mL	$1,95 \times 10^6$	Asam	Khas	Cair	Putih
40:50	4,3	0,742 g/mL	$1,98 \times 10^6$	Asam	Khas	Cair	Putih
50:50	4,1	0,706 g/mL	$2,10 \times 10^6$	Asam	Khas	Cair	Putih

Karakteristik minuman probiotik meliputi pengujian pH, viskositas, organoleptic, dan total bakteri asam laktat (BAL). Setelah diperoleh minuman probiotik dengan karakteristik yang baik kemudian dilakukan pengujian aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil pengujian karakteristik minuman probiotik sari ubi kayu dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1, hasil pengukuran pH menunjukkan terjadinya perbedaan nilai pH pada minuman probiotik masing-masing perbandingan kultur dengan sari ubi kayu. Nilai pH masing-masing perbandingan sebesar 4,1 – 5,0 termasuk pH yang cukup rendah dalam pembuatan minuman probiotik, sehingga variasi perbandingan kultur dengan sari ubi kayu pada pembuatan minuman probiotik sari ubi kayu cenderung mengalami penurunan seiring dengan konsentrasi kultur yang semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena semakin tingginya konsentrasi kultur yang ditambahkan pada sari ubi kayu dipengaruhi oleh kemampuan starter dalam membentuk asam laktat yang digunakan atau ditentukan oleh jumlah dan jenis starter yang digunakan.¹⁸ Besar kecilnya nilai pH dipengaruhi oleh konsentrasi ion H^+ . Asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi merupakan asam yang mudah terdisosiasi menjadi ion H^+ dan ion $CH_3CHOHCOO^-$. Konsentrasi ion H^+ yang tinggi akan menurunkan nilai pH sehingga minuman probiotik setelah fermentasi menjadi asam. Total asam laktat berhubungan dengan nilai pH. Semakin tinggi nilai asam laktat yang dihasilkan, maka nilai pH semakin rendah.¹⁷

Adanya asam laktat dan total padatan terlarut lainnya dapat mempengaruhi viskositas produk. Pada perbandingan kultur dengan sari ubi kayu 50:50 memiliki nilai viskositas yang lebih rendah (sebesar 0,706 g/mL). Keberadaan asam-asam organik termasuk asam laktat sebagai metabolit bakteri asam laktat selama fermentasi merupakan salah satu komponen padatan terlarut yang dapat meningkatkan viskositas.¹⁹

Semakin tinggi konsentrasi kultur bakteri pada pembuatan minuman probiotik sari ubi kayu maka nilai total bakteri asam laktat semakin meningkat. Pada perbandingan kultur dengan sari ubi kayu 50:50 jumlah bakteri asam laktat lebih banyak sekitar $2,10 \times 10^6$ g/mL dibandingkan dengan perbandingan lainnya. Peningkatan total bakteri asam laktat diduga terjadi akibat semakin banyak kultur bakteri. Produk yang dikatakan sebagai probiotik harus mengandung bakteri probiotik dengan jumlah minimal 10^6 CFU/mL.¹⁴

Pengujian aktivitas dilakukan dengan metode difusi agar atau sumur. Metode difusi agar didasarkan pada kemampuan senyawa-senyawa antibakteri yang diuji untuk menghasilkan jari-jari zona penghambatan di sekeliling sumur uji terhadap bakteri penguji. Diameter daerah hambat (DDH) yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong pada masing-masing konsentrasi. Berikut hasil daya hambat yang terjadi pada minuman probiotik sari ubi kayu terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas minuman probiotik sari ubi kayu terhadap bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Rata-rata DDH (mm)	Respon Hambatan
Kontrol (-)	0	Tidak ada hambatan
Kontrol (+)	15,06	Kuat
Kultur 50:50	5,33	Sedang

Berdasarkan Tabel 2 dapat dinyatakan bahwa hasil pengamatan yang diperoleh dari berbagai diameter daya hambat (DDH) yang terbentuk dari perbandingan kultur 50:50 menunjukkan bahwa minuman probiotik sari ubi kayu memiliki aktivitas antibakteri dimana semakin luas zona bening yang terbentuk, maka semakin besar juga aktivitas yang terdapat pada sampel tersebut dan hal ini bukan berasal dari pelarut yang digunakan. Zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh bakteri asam laktat yang memproduksi asam laktat, asam-asam organik lain, hidrogen peroksida, dan diasetil serta senyawa-senyawa lain yang bersifat antibakteri.²⁰ Bakteri *Lactobacillus* dapat menurunkan pH lingkungan dengan mengubah gula menjadi asam laktat. Kondisi ini akan menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri patogen.

KESIMPULAN

Perbandingan kultur bakteri dengan sari ubi kayu 50:50 terpilih sebagai perlakuan terbaik yang menghasilkan minuman probiotik sari ubi kayu dengan karakteristik pH 4,1; viskositas 0,706 g/mL; total bakteri asam laktat (BAL) $2,10 \times 10^6$ CFU/mL; dan nilai aktivitas antibakteri terbesar terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu 5,33mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Kesehatan yang telah memberikan dana penelitian ini melalui DIPA Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya

tahun 2019 dan Unit Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Politeknik Kesehatan Kemenkes Tasikmalaya yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Wiardani NI, Sugiani PP, Gumala NM. Konsumsi lemak total, lemak jenuh, dan kolesterol sebagai faktor risiko sindroma metabolik pada masyarakat perkotaan di Denpasar. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*. 2011;7(3):121-28.
2. Herlina E, Nuraeni. Pengembangan produk pangan fungsional berbasis ubi kayu (*Manihot esculenta*) dalam menunjang ketahanan pangan. *Jurnal Sains Dasar*. 2014;3(2):142-48.
3. Yuniastuti A. Buku monograf probiotik (Dalam Perspektif Kesehatan). Semarang: Unnes Press; 2014.
4. Widiyaningsih EN. Peran robiotik untuk kesehatan. *Jurnal Kesehatan*. 2011;4(1):14-20.
5. Nuranasari I. Potensi probiotik *Lactobacillus* yang diisolasi dari bakteri asam laktat hasil fermentasi kefir "gedono" dan viabilitasnya pada daging ayam olahan [skripsi]. Semarang: Unika Soegijapranata; 2015.
6. Kamara DS, Rachman SD, Pasisca RW, Djajasoepena S, Suprijana O, Idar I, Ishmayana S. Pembuatan dan aktivitas antibakteri yogurt hasil fermentasi tiga bakteri (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*). *Al Kimia*. 2016;4(2) :22-32.
7. Rizal S, Erna M, Nurainy F, Tambunan AR. Karakteristik probiotik minuman fermentasi laktat sari buah nenas dengan variasi jenis bakteri asam laktat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 2016;18(1): 63-71.
8. Rizal S, Marniza, Nurainy F. Pemanfaatan kulit nenas pada pembuatan minuman probiotik dengan jenis bakteri asam laktat berbeda. *Prosiding Seminar nasional Sains dan teknologi VI*; 2015 Nov 3; Bandar Lampung, Indonesia. Lampung: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Lampung; 2015.p.459-73.
9. Suharyono AS, Rizal S, Nurainy F. Karakteristik minuman sinbiotik dari ekstrak daun cincau hijau (*Premna*

- oblongifolia* Merr.) dengan konsentrasi sukrosa dan susu skim yang berbeda. Prosiding Seminar Nasional Sains MIPA dan Aplikasinya; 2009 Nov 16-17; Bandar Lampung, Indonesia. Lampung: Fakultas MIPA Universitas Lampung; 2009.p.895-904.
10. Khotimah K, Kusnadi J. Aktivitas antibakteria minuman probiotik sari kurma (*Phoenix dactylifera*, L.) menggunakan *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2014; 2(3):110-20.
 11. Oktaviani EP, Purwijantiningih LME, Pranata FS. Kualitas dan aktivitas antioksidan minuman probiotik dengan variasi ekstrak buah naga merah (*Hylotreceus polyrhizus*). Jurnal Teknobiologi. 2014;1(1):1-15.
 12. Sandi YT, Zubaidah E. Pembuatan sake berbasis ubi kayu (*Manihot esculanta crantz*) kajian pengaruh konsentrasi starter *saccharomyces cereviceae*". Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2014; 2(4):1-9.
 13. Retnowati PA, Kusnadi J. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan isolat *Lactobacillus Casei* dan *Lactobacillus plantarum*. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2014; 2(2):70-81.
 14. Fadhilah AN, Hafsan, Nur F. Penurunan kadar kolesterol oleh bakteri asam laktat asal dangke secara in vitro. Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan; 2015 Jan 29; Makassar, Indonesia. Makassar: UIN Alauddin; 2015.p.174-80.
 15. Vinderola G, Ouwehand A, Salminen S, Wright AV. Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. Francis : CRC Press. 2019.
 16. Efendi Z, Surawan FED, Winarto. Efek blanching dan metode pengeringan terhadap sifat fisikokimia tepung ubi jalar orange (*Ipomoea batatas* L.). Jurnal Agro Industri. 2015;5(2):109-17.
 17. Maryana D. Pengaruh penambahan sukrosa terhadap jumlah bakteri dan keasaman whey fermentasi dengan menggunakan kombinasi *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* [skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin; 2014.
 18. Handayani I, Sustriawan B. Potensi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* untuk menurunkan kolesterol pada minuman probiotik okara. Jurnal Pembangunan Pedesaan. 2012; 12(1):56-64.
 19. Fardiaz S. Mikrobiologi pangan. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama; 2014.
 20. Singha TK. Microbial extracellular polymeric substances: production, isolation and applications. IOSR J Pharm. 2012;2(2):271-81.

Efek Iritasi Sabun Mandi Batang Mengandung Susu Produk Usaha Kecil Menengah di Kota Cimahi

Irritation Effect of Bar Soap Containing Milk Produced by Small and Medium Enterprises in Cimahi

Suci Nar Vikasari^{1}, Faizal Hermanto¹, Elivas Simatupang², Afifah Bambang Sutjiatmo¹, Titta Hartiyana Sutarna¹, Ririn Puspawati¹, Lucky Rachmawan¹, Fahmi Ahsanul Haq¹*

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

²Badan Penelitian dan Pengembangan Kota Cimahi, Cimahi, Indonesia

*E-mail: suci.vikasari@lecture.unjani.ac.id

Diterima: 21 Desember 2020

Direvisi: 19 Juni 2020

Disetujui: 30 Juli 2020

Abstrak

Salah satu cara meningkatkan keuntungan usaha kecil dan menengah (UKM) Kota Cimahi adalah dengan diversifikasi produk melalui pembuatan sabun batang yang berasal dari susu sapi hasil UKM. Sabun mandi batang harus mempunyai tingkat keasaman (pH) yang tepat, bila tidak akan membuat kulit kering, gatal atau bahkan akan mengalami iritasi. Oleh karena itu dilakukan penelitian terhadap efek iritasi sabun mandi batang yang diproduksi UKM kota Cimahi dengan melakukan pengujian iritasi sesuai pedoman uji toksisitas nonklinis secara *in vivo* pada hewan uji tikus. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok dan dipaparkan sabun selama empat jam. Lima sampel sabun diperoleh dari UKM di kelurahan Cipageran, kota Cimahi. Pengamatan dilakukan pada jam ke-1, 4, 24, 48 dan 72 jam setelah pemaparan dan dilanjutkan selama 14 hari. Parameter yang diamati adalah eritema dan edema, serta indeks iritasi primer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima sabun mandi yang mengandung susu sapi produksi UKM kota Cimahi tidak menyebabkan eritema dan edema. Hasil perhitungan indeks iritasi primer semua sampel sabun mandi sebesar 0,0. Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa, sabun mandi batang mengandung susu sapi produksi UKM Kota Cimahi masuk kategori iritasi sangat ringan (*negligible*).

Kata kunci: Sabun mandi; Susu; *In vivo*; Iritasi

Abstract

*One of the ways to increase profit in small and medium business (UKM) in Cimahi is by diversifying its products, through manufacturing of bar soap derived from cow's milk from UKM. The requirement of bath soap is proper acidity (pH) level, otherwise it will make the skin dry, itchy or even increase irritation. Therefore, this *in vivo* non-clinical irritation evaluation is conducted to evaluate the effects of bar soap produced by UKM in Cimahi according to the guidelines in rat test animals. The animals is divided into five groups and exposed to soap for four hours. Five soap samples is obtained from UKM in Cipageran area, Cimahi. Observations is made at the hours of 1, 4, 24, 48, and 72 hours after exposure and is continued for 14 days. The measured parameters is erythema and edema, and the primary irritation index. The results showed that bar soap containing cow milk produced by UKM in Cimahi did not cause erythema and edema. Primary irritation index of all bath soap samples was 0.0. It can be concluded that soap bars containing cow's milk produced by Cimahi City UKM including into the category of very mild irritation (*negligible*).*

Keywords: Soap bar; Milk; *In vivo*; Irritation

PENDAHULUAN

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan ekonomi masyarakat adalah diversifikasi produk olahan. Usaha susu perah di Indonesia juga melakukan diversifikasi untuk meningkatkan keuntungan, antara lain dengan membuat yoghurt, kefir, ataupun sabun batang yang mengandung susu.^{1,2} Beberapa usaha kecil dan menengah (UKM) di Kota Cimahi melakukan diversifikasi produk susu, salah satunya dengan menghasilkan sabun mandi batang. Pemilihan produk diversifikasi sabun mandi batang berdasarkan pertimbangan tingginya daya jual dan ketersediaan produk dalam jangka waktu lama.³

Sabun mandi batang adalah kosmetik yang mengandung campuran bahan yang digunakan pada bagian luar badan, dengan tujuan untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi tubuh supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit.⁴ Susu sapi mengandung vitamin, mineral, antioksidan, protein, enzim dan lemak. Selain digunakan sebagai bahan pangan, susu sapi sering ditambahkan dalam pembuatan sabun mandi. Salah satu kandungan susu sapi, yaitu kasein. Kasein mempunyai gugus amfoter yang dapat menurunkan tegangan antar muka antara lemak dan air. Sifat kasein tersebut dapat digunakan untuk pembentukan dan penstabil emulsi, busa dan gel.^{5,6} Struktur amfoter pada kasein yang terkandung dalam susu juga dapat meningkatkan ketahanan pada epidermis kulit dan membantu regenerasinya.⁶ Keunggulan lain penggunaan sabun mandi yang mengandung susu karena susu mempunyai kemampuan retensi air yang tinggi dan mempunyai efek antibakteri. Efek antibakteri pada susu sapi dikarenakan kandungan protein dan enzim didalamnya (lisozim, laktoferin dan laktoperoksidase).⁶

Di Indonesia, kosmetik yang berupa sabun mandi, termasuk sabun mandi batang mengandung susu harus memenuhi persyaratan yang ditetapkan Standar Nasional Indonesia (SNI) No 3532:2016

mengenai sabun mandi padat.⁷ Retnowati dkk menyatakan bahwa sabun mandi mengandung susu yang beredar di Indonesia mempunyai kekurangan antara lain tekstur yang sangat lembek setelah digunakan dan nilai pH diatas 10,5.⁸ Adanya pH tinggi pada sabun mandi dapat menyebabkan menurunnya flora normal kulit, menyebabkan pembesaran stratum korneum pada kulit, mengubah daya absorpsi kulit sehingga kulit mudah mengalami iritasi dan menjadi sensitif (alergi dan fotosensitivitas).^{8,9,10}

Sabun mandi batang produksi UKM Cimahi dibuat menggunakan proses dingin saponifikasi, dimana akan terjadi hidrolisis alkali triasilgliserol dan bereaksi dengan basa kuat membentuk garam asam lemak, asam lemak bebas dan gliserol.^{11,12} Sabun mandi batang produksi UKM Cimahi dibuat menggunakan formula umum mengandung 10% susu sapi, 20% minyak kelapa, 20% minyak kelapa sawit, 10% kaustik soda (NaOH), parfum dan ditambahkan air hingga 100%. Derajat alkali yang tinggi pada sediaan sabun mandi padat dapat menyebabkan risiko terjadinya iritasi kulit.^{8,9,10} Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji iritasi untuk mengetahui reaksi langsung yang timbul pada pemakaian pertama kosmetik karena dikhawatirkan sabun mandi batang produksi UKM Kota Cimahi bersifat iritan.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Pengujian iritasi dermal sabun mandi susu Cipageran dilakukan berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis secara In vivo.¹³ Pengujian ini telah mendapat persetujuan Komite Etik Pratiklinik Institusional Nomor 6019/KEP-UNJANI/VI/2019.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain timbangan hewan (Stanton 351BR[®]),

timbangan analitik (Shimadzu ATY124[®]), dan seperangkat alat uji iritasi.

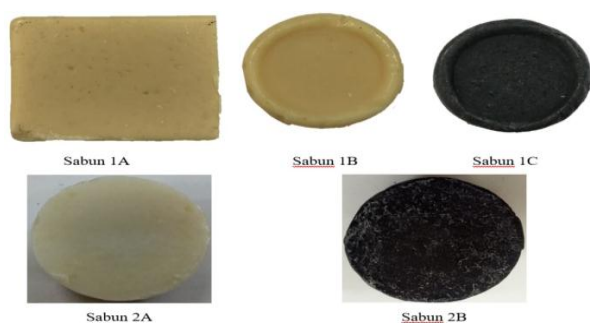
Sampel berupa sabun mandi batang mengandung susu yang diperoleh dari UKM di Kelurahan Cipageran, Kecamatan Cimahi Utara, Kota Cimahi

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus Wistar jantan, usia 2 bulan dan bobot badan antara 180-200 gram. Hewan uji diperoleh dari Pusat Penelitian Biosains dan Biogenetika ITB. Hewan uji yang digunakan adalah hewan sehat yang ditandai dengan bulu putih dan tidak rontok.

Prosedur kerja

Pengumpulan sabun mandi batang

Sampel sabun mandi batang mengandung susu berasal dari Usaha Kecil Menengah (UKM) yang ada di Kelurahan Cipageran, Kecamatan Cimahi Utara, Kota Cimahi. Pengumpulan sampel sabun mandi berasal dari dua lokasi UKM, yaitu lokasi 1 dan lokasi 2. Pada UKM lokasi 1 diperoleh 3 sampel produk sabun batang, sedangkan pada UKM lokasi 2 diperoleh 2 sampel produk sabun batang (Gambar 1.). Sabun yang dikumpulkan adalah sabun yang baru saja diproduksi.



Gambar 1. Sampel sabun mandi batang mengandung susu dari UKM Kota Cimahi

Keterangan:

Sabun 1A, 1B, dan 1C dari lokasi 1

Sabun 2A dan 2B dari lokasi 2

Pengujian iritasi sabun mandi

Pengujian iritasi dermal sabun mandi susu Cipageran dilakukan berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7

Tahun 2014 tentang Pedoman Uji toksisitas Nonklinik secara In vivo.¹³

Sebelum dilakukan pengujian, hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu selama seminggu. Dua puluh empat jam sebelum pengujian, hewan uji dicukur di daerah punggung dan daerah punggung tersebut dibagi menjadi dua area untuk pemaparan sediaan uji dan kontrol. Sesuai dengan tahapan uji iritasi akut dermal yang tertera dalam Pedoman uji toksisitas nonklinik secara in vivo, maka hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok (3 ekor per kelompok) yaitu kelompok yang diberi sampel sabun mandi batang 1a, 1b, 1c, 2a dan 2b.¹⁴

Sebanyak 0,5 gram sabun mandi padat yang dilarutkan dalam 15 ml air diteteskan pada kain kasa dan dipaparkan pada kulit punggung hewan uji, dan pelarut air digunakan sebagai kontrol. Pemaparan zat uji dilakukan selama 4 jam, dimana pengamatan dilakukan pada jam ke-1 dan ke-4. Setelah zat uji dipaparkan selama 4 jam, kemudian dilakukan pelepasan zat uji. Untuk menghilangkan residu bahan uji, dilakukan penghilangan menggunakan air. Pengamatan iritasi dilakukan kembali pada jam ke-24, 48 dan 72 setelah pemaparan zat uji dan dilanjutkan selama tidak kurang 14 hari.

Parameter yang diamati adalah pembentukan eritema dan edema. Pengamatan parameter tersebut dilakukan menggunakan sistem skoring, dimana diberi skor 0 jika tidak ada eritema, skor 1 jika ada eritema yang sangat kecil dan hampir tidak dapat dibedakan, skor 2 jika eritema terlihat jelas, skor 3 jika eritema sedang sampai parah dan skor 4 jika eritema parah. Pengamatan edema juga dilakukan menggunakan sistem skoring, dimana diberi skor 0 jika tidak ada edema, skor 1 jika ada edema yang sangat kecil dan hampir tidak dapat dibedakan, skor 2 jika edema terlihat jelas, skor 4 jika edema sedang sampai parah dan skor 4 jika edema parah.

Untuk mengetahui tingkat keparahan luka dan ada tidaknya reversibilitas, maka dilakukan perhitungan indeks iritasi primer berdasarkan nilai skor eritema dan edema.

$$\text{Indeks Iritasi Primer} = \frac{A + B}{C}$$

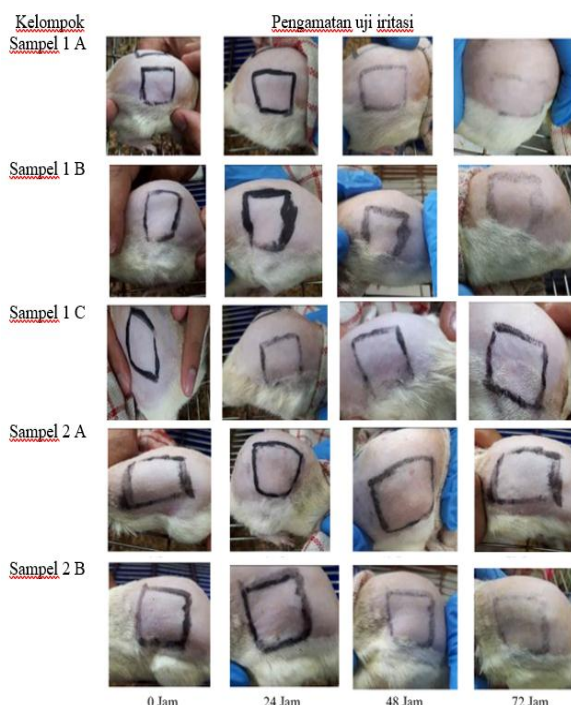
A = Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatan sampel pada jam ke 24, 48 dan 72 dibagi jumlah pengamatan

B = Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatan kontrol pada jam ke 24, 48 dan 72 dibagi jumlah pengamatan

C = Jumlah hewan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, uji iritasi kulit dilakukan dengan mengamati adanya eritema dan edema setelah penggunaan sabun. Untuk mengurangi bias pada saat pengamatan dan pemberian skor eritema dan edema, maka pada penelitian ini disepakati dilakukan oleh tiga panelis. Hasil pengamatan uji iritasi dermal sediaan uji dapat dilihat pada Gambar 2, hasil penilaian eritema dapat dilihat pada Tabel 1. dan 2, hasil penilaian edema dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4 dan hasil perhitungan indeks iritasi primer dapat dilihat pada Tabel 5.



Gambar 2. Pengamatan uji iritasi sabun mandi batang mengandung susu dari UKM Kota Cimahi

Tabel 1. Hasil pengamatan eritema uji iritasi setelah pemaparan zat uji

Kelompok	Pengamatan eritema pada jam ke-		
	24	48	72
Sampel 1A	0,00	0,00	0,00
Sampel 1B	0,00	0,00	0,00
Sampel 1C	0,00	0,00	0,00
Sampel 2A	0,00	0,00	0,00
Sampel 2B	0,00	0,00	0,00

n = 3

Tabel 2. Hasil pengamatan eritema uji iritasi selama 14 hari setelah pemaparan zat uji

Kelompok	Pengamatan eritema pada hari ke-					
	1	3	5	9	11	14
Sampel 1A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 1B	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 1C	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 2A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 2B	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

n = 3

Hasil pengamatan selama 72 jam dan 14 hari setelah pemaparan zat uji menunjukkan kelima sabun yang diproduksi UKM tidak menyebabkan eritema pada punggung kulit hewan uji

Tabel 3. Hasil pengamatan edema uji iritasi setelah pemaparan zat uji

Kelompok	Pengamatan edema pada jam ke-		
	24	48	72
Sampel 1A	0,00	0,00	0,00
Sampel 1B	0,00	0,00	0,00
Sampel 1C	0,00	0,00	0,00
Sampel 2A	0,00	0,00	0,00
Sampel 2B	0,00	0,00	0,00

n = 3

Tabel 4. Hasil pengamatan edema uji iritasi selama 14 hari setelah pemaparan zat uji

Kelompok	Pengamatan edema pada hari ke-					
	1	3	5	9	11	14
Sampel 1A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 1B	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 1C	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 2A	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sampel 2B	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

n = 3

Hasil pengamatan selama 72 jam dan 14 hari setelah pemaparan zat uji menunjukkan kelima sabun yang diproduksi UKM tidak

menyebabkan terbentuknya iritasi pada punggung kulit hewan uji

Tabel 5. Hasil perhitungan indeks iritasi primer

Kelompok	Nilai indeks iritasi primer
Sampel 1A	0,00
Sampel 1B	0,00
Sampel 1C	0,00
Sampel 2A	0,00
Sampel 2B	0,00

Hasil perhitungan indeks iritasi primer kelima produk tersebut adalah 0. Berdasarkan kriteria yang ada, jika nilai iritasi dalam rentang 0,0-0,4 maka sampel termasuk kategori iritasi sangat ringan (*negligible*).¹³

Formula sabun batang pada sediaan yang diuji mengandung NaOH. NaOH merupakan senyawa alkalin yang dapat meningkatkan pH kulit dan mengubah aktivitas enzim yang terlibat pada degradasi filaggrin yang berperan pada hidrasi stratum korneum pada kulit.¹⁴ Pengaruh penambahan susu pada formula sabun batang dapat mengurangi efek yang tidak diharapkan dari NaOH, karena susu mengandung kasein yang dapat bersifat surfaktan.^{5,6,14}

Susu sapi mengandung 87% air, 3-4% lemak, 3,5% protein, 5% laktosa, dan 1,2% mineral, dengan variasi tergantung tempat hewan ditanamkan.¹⁷ Beberapa studi menyebutkan bahwa susu mengandung lisozim yang dapat bersifat antibakteri, bersifat proteolitik dan merupakan faktor imunoprotektif non spesifik. Selain lisozim, susu juga mengandung senyawa xanthin oksidase yang juga mempunyai efek antimikroba. Kasein yang terkandung dalam susu merupakan senyawa aktif permukaan yang dapat membantu hidrasi kulit.⁶ Pada penelitian ini, diduga kasein yang terkandung pada susu sapi yang ditambahkan pada sabun mandi batang dapat membantu tidak menyebabkan iritasi.

Fungsi kulit sebagai pertahanan tubuh berhubungan dengan sifat keasaman pada permukaan kulit (pH permukaan kulit). Keasaman permukaan kulit tersebut rentan berubah, salah satunya karena penggunaan

sabun dan produk pembersih kulit lainnya. Sabun yang baik untuk kulit adalah yang mempunyai pH normal atau $pH > 5$.^{16,17} Pada penelitian ini, kandungan alkali bebas yang tidak berlebihan diduga menyebabkan susu sapi yang ditambahkan pada sabun mandi tidak menyebabkan iritasi.

Pada umumnya, sabun berguna untuk menghilangkan kotoran, tetapi seperti yang telah disebutkan, sabun juga mempunyai beberapa efek yang tidak diharapkan. Efek yang tidak diharapkan tersebut dapat berupa kerusakan pada fungsi pertahanan kulit, yang dapat disebabkan karena senyawa iritan dan antigen, serta efek iritasi kulit yang ditandai dengan eritema dan edema. Eritema kulit merupakan kondisi kemerahan pada kulit sebagai hasil dari stimulus eksternal, reaksi imunologi, atau infeksi virus. Eritema dapat terjadi secara cepat setelah diberikan stimulus dan diinterpretasikan sebagai reaksi refleksi pada akson sistem saraf aferen. Setelah antigen menstimulus serat kulit sehingga mengaktifkan neuropeptida P/ Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), yang kemudian dapat menginduksi vasodilatasi, sehingga meningkatkan aliran darah ke kulit dan menyebabkan kemerahan.¹⁸ Edema ditandai dengan adanya pembengkakan yang diawali dengan pembuluh darah kapiler tubuh mengalami kebocoran cairan dan cairan tersebut tersimpan di sekitar jaringan. Beberapa penyebab edema umumnya antara lain adalah sengatan lebah, infeksi kulit, reaksi alergi.²⁰ Pada penelitian ini, sabun batang yang mengandung susu sapi tidak menyebabkan terjadinya iritasi dan edema.

KESIMPULAN

Hasil studi in vivo sabun mandi batang yang mengandung susu produksi UKM di Kelurahan Cipageran, Kecamatan Cimahi Utara, Kota Cimahi pada tikus Wistar, masuk kategori iritasi sangat ringan (*negligible*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih ditujukan pada Badan Penelitian dan Pengembangan Kota Cimahi dan Universitas Jenderal Achmad Yani yang membiayai penelitian ini melalui Program Kerjasama Penelitian Tahun 2019.

DAFTAR RUJUKAN

1. Riwayati I, Hartati I, Darmanto, Subekti E. Pemanfaatan susu sapi perah melalui diversifikasi produk olahan menjadi sabun mandi susu (Ipteks bagi masyarakat petani-peternak di desa Terwidi Gunung Pati Semarang). *Techno*. 2015;16(1):50–7. doi: 10.30595/techno.v16i1.66
2. Sumanto. Diversifikasi produk pengolahan susu guna meningkatkan keuntungan usaha kambing perah (milk products diversification to increase profit of dairy goat farming. *Wartazoa*. 2016;26(4):173–82.
3. Susanti AD, Astuti RD, Cahyono SI. PKM : Produksi sabun susu padat di Kelompok Wanita Ternak (KWT) Margomulyo Klaten. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat IV Tahun 2019 “Pengembangan Sumberdaya menuju Masyarakat Madani Berkearifan Lokal” LPPM - Universitas Muhammadiyah Purwokerto*. 2019:568-73
4. Republik Indonesia. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 23 Tahun 2019 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik. *Badan Pengawas Obat dan Makanan*; 2019.
5. Ryder K, Ali MA, Carne A, Billakanti J. The potential use of dairy by-products for the production of non-food biomaterials. *Critical Reviews in Environmental Science Technology*. 2017;47(8):621–42. doi: <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1322875>
6. Cosentino C, Elshafie H, Labella C, D’Adamo C, Pecora G, Musto M, et al. Study on the protective effect of an innovative cow milk-based product against some human skin-bacterial pathogens. *Journal of Biological Research*. 2018;91(7426):35–9.
7. Standar Nasional Indonesia (SNI) 3532:2016 sabun mandi padat. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional; 2016.
8. Retnowati DS, Kumoro AC, Ratnawati, Budiayati CS. Pembuatan dan karakterisasi sabun susu dengan proses dingin. *Jurnal Rekayasa Proses*. 2013;7(2):46–51. doi: <https://doi.org/10.22146/jrekpros.4951>
9. Ismanto SD, Neswati N, Amanda S. Pembuatan sabun padat aromaterapi dari minyak kelapa murni (virgin coconut oil) dengan penambahan minyak gubal gaharu (*Aquilaria malaccensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*. 2016;20(2):9–19. doi: <https://doi.org/10.25077/jtpa.20.2.9-18.2016>
10. Draelos ZD. The science behind skin care: cleansers. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2018;17(1):8–14. doi: <https://doi.org/10.1111/jocd.12469>
11. Félix S, Araújo J, Pires AM, Sousa AC. Soap production: a green prospective. *Waste Management*. 2017;66:190–5. doi: 10.1016/j.wasman.2017.04.036
12. Vidal NP, Adigun OA, Pham TH, Mumtaz A, Manful C, Callahan G, et al. The effects of cold saponification on the unsaponified fatty acid composition and sensory perception of commercial natural herbal soaps. *Molecules*. 2018;23(9):1–20. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules23092356>
13. Republik Indonesia. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In vivo. *Badan Pengawas Obat dan Makanan*; 2014.
14. Khosrowpour Z, Nasrollahi SA, Ayatollahi A, Samadi A, Firooz A. Effects of four soaps on skin trans-epidermal water loss and erythema index. *Journal Cosmetic Dermatology*. 2019;18(3):85761. doi: 10.1111/jocd.12758
15. Marangoni F, Pellegrino L, Verduci E, Ghiselli A, Calvani R, Cetin I, et al. Cow’s milk consumption and health : a Health Professional’s guide. *Journal of the American College of Nutrition*. 2018;0(0):1–12. doi: <https://doi.org/10.1080/07315724.2018.1491016>
16. Blaak J, Staib P. The relation of pH and skin cleansing. in: *pH of the skin: issues and Challenges*. 2018;(54):132–42. doi: <https://doi.org/10.1159/000489527>
17. Baranda L, Amaro RG, Alvarez BT, Alvarez C, Ramirez V. Correlation between pH and irritant effect of cleansers marketed for dry skin. *International Journal Dermatology*. 2002;41(8):494–9. doi:

- 10.1046/j.1365-4362.2002.01555.x
18. Abdlaty R, Fang Q. Skin erythema assessment techniques: review article. [Internet]. ResearchGate: 2018 September 18. doi: 13140/RG.2.2.13101.54245

Perbandingan Teknik Aerasi dan Ultrasonikasi Gelasi Ionik Nanopartikel Deksametason Natrium Fosfat

Comparison of Aeration and Ultra-sonication Techniques for Ionic Gelation Nanoparticle Dexamethasone Sodium Phosphate

Bambang Hernawan Nugroho^{1,2*}, Multi Tri Wardani¹, Suparmi¹

¹Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

²Pusat Penelitian Nanofarmasi, Departemen Farmasi, FMIPA Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, Indonesia

*Email: bambang.hernawan@uii.ac.id

Diterima: 29 Agustus 2019

Direvisi: 8 Mei 2020

Disetujui: 21 Juni 2020

Abstrak

Alginate, polimer alami yang biokompatibel dan biodegradabel, telah banyak digunakan sebagai pembawa molekul obat menggunakan metode gelasi ionik (*crosslinking*). Salah satu faktor yang harus diperhatikan dalam sintesisnya adalah efek mekanik. Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan proses preparasi dan karakteristik dari *crosslinker* kalsium alginat pembawa deksametason natrium fosfat dengan teknik *low energy* dan *high energy*. Nanosuspensi dibuat dalam enam formula menggunakan 3 teknik, yaitu *low energy* (aerasi), *high energy* (ultrasonikasi), dan kombinasi *low* dan *high energy* (aerasi dan ultrasonikasi) dengan konsentrasi deksametason natrium fosfat dan natrium alginat yang tetap, yaitu 0,2% dan 0,1%, serta dengan konsentrasi kalsium klorida 0,02% dan 0,2%. Penentuan ukuran partikel, zeta potensial dan morfologi dari nanopartikel dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), *Scanning Electron Microscope* (SEM), dan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Penetapan nilai efisiensi enkapsulasi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV/Vis dan analisis statistika hasil nanosuspensi dilakukan menggunakan uji MANOVA. Sintesis nanosuspensi menggunakan teknik kombinasi *low* dan *high energy* (aerasi dan ultrasonikasi) menghasilkan karakteristik paling optimal dengan nilai ukuran partikel $352,90 \pm 6,10$ nm, indeks polidispersitas terhomogen ($0,52 \pm 0,04$), zeta potensial optimal $-44,40 \pm 0,4$ mV, efisiensi enkapsulasi 49,5-74,8% dan bentuk partikel yang sferis. Dapat disimpulkan bahwa preparasi *crosslinker* kalsium alginat sebagai pembawa DNF menggunakan teknik kombinasi *low* dan *high energy* merupakan metode preparasi yang menghasilkan nanosuspensi paling optimal.

Kata kunci: Alginate; Gelasi ionik; Deksametason natrium fosfat; Aerasi; Ultrasonikasi

Abstract

Alginate, a biocompatible and biodegradable natural polymer, has been widely used as a drug molecular carrier using ionic gelation methods (*crosslinking*). One of the factors that must be taken into account in its preparation is the mechanical effect. The purpose of this study was to explain the preparation process and the characteristics of the calcium alginate crosslinkers as dexamethasone sodium phosphate carriers with low energy and high energy techniques. Nanosuspension is made in six formulas using 3 techniques: low energy (aeration), high energy (ultrasonication), low and high energy (aeration and ultrasonication) with a fixed concentration of dexamethasone sodium phosphate and sodium alginate, that is 0,2% and 0,1%, with 0,02% and 0,2% of calcium chloride. Determination of particle size, zeta potential, and morphology of nanoparticles using Particle Size Analyzer (PSA) and Scanning Electron Microscope (SEM), Transmission Electron Microscope (TEM). Determination of encapsulation efficiency using UV/Vis spectrophotometer and statistical analysis using MANOVA test. Synthesis of nanosuspension using a combination of low and high energy (aeration and ultrasonication) results in the most optimal characteristics with particle size value of 352.90 ± 6.10 nm, homogenized polydispersity index ($0,52 \pm 0,04$), optimal potential zeta $-44,40 \pm 0,4$ mV, the encapsulation efficiency of 49,5 - 74,8% and spherical particle shape. It can be concluded that the preparation using a combination of low and high energy is the most optimal preparation result.

Keyword: Alginate; Ionic gelation; Dexamethasone sodium phosphate; Aeration; Ultrasonication

PENDAHULUAN

Deksametason natrium fosfat (DNF) merupakan obat golongan kortikosteroid yang memiliki khasiat antiinflamasi kuat yang merupakan salah satu alternatif terapi pengobatan *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) dengan waktu paruh pendek yaitu sekitar 2-3 jam. Pada kasus IBD, lapisan permukaan usus membentuk celah yang menciptakan potensi untuk memodifikasi karakteristik pelepasan obat dengan memasukkan partikel pembawa obat antiinflamasi yang berukuran lebih kecil. Partikel tersebut akan melekat di celah permukaan usus untuk pelepasan obat secara perlahan. Pemberian deksametason yang terenkapsulasi lebih efektif dalam pengobatan infeksi usus dibandingkan dengan deksametason konvensional.^{1,2}

Gelasi ionik merupakan metode populer pilihan dalam sintesis ikatan sambung silang (*crosslink*) senyawa enkapsulator. Sodium alginat larut dalam air dan dapat disambungkan silang dengan adanya kation divalen atau polivalen seperti Ca^{2+} dan Zn^{2+} . Sumber kalsium yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalsium klorida. Kalsium klorida sangat banyak digunakan untuk pembentukan gel alginat. Kelarutan dalam air yang tinggi membuat kecepatan gelasinya tinggi.³⁻⁵

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa teknik ultrasonikasi mampu digunakan untuk menyintesis ikatan silang kitosan-tripolifosfat sebagai pembawa DNF dengan homogenisasi menggunakan ultrasonikator.⁶ Penelitian lain membuktikan bahwa teknik *stirring* menggunakan *magnetic stirrer* dapat menyintesis ikatan silang kalsium alginat dengan berbagai variasi konsentrasi alginat.⁷ Studi ini berfokus pada efek mekanik yang perlu dipertimbangkan pemilihannya dalam sintesis suatu *crosslinker*. Efek mekanik pada proses homogenisasi dapat menimbulkan percepatan partikel, getaran, tekanan pancaran dan gaya gesek yang dimanfaatkan untuk mengecilkan ukuran suatu partikel dan menjaga partikel tetap kecil terhadap pengaruh pertumbuhan

partikel dan aglomerasinya.⁶⁻¹⁰ Efek mekanik dapat dihasilkan melalui perputaran, getaran *magnetic stirrer*, dan pergerakan gelembung udara aerasi (teknik *low energy*), maupun dari getaran gelombang ultrasonik (ultrasonikator/teknik *high energy*).

Penulis sebelumnya telah melakukan penelitian yang membuktikan bahwa metode aerasi dapat digunakan untuk membentuk nanopartikel DNF dengan gelasi ionik kalsium alginat. Teknik aerasi yang digunakan dibandingkan dengan teknik ultrasonikasi yang sudah banyak terbukti mampu menghasilkan nanopartikel berkualitas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjelaskan proses preparasi dan karakteristik dari *crosslinker* kalsium alginat pembawa DNF yang dihasilkan melalui penggunaan teknik *low energy* (aerasi), *high energy* (ultrasonikasi), dan teknik kombinasi (aerasi dan ultrasonikasi) dalam proses pembentukan ukuran nanopartikel.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi *Scanning Electron Microscope* (Hitachi SU 3500), *Transmission Electron Microscope* (JEM 1400, JEOL), Spektrofotometer UV/Vis (UV-1800 Shimadzu), *Dynamic Light Scattering* (Horiba SZ 100), *ultrasonic homogenizer probes* (Model 150VT Biologics), dan *syringe pump* (SPLab02 Shenchen). Bahan-bahan yang digunakan antara lain aquabides dari laboratorium Teknologi Farmasi, deksametason natrium fosfat (Sanofi, 99,5%), kalsium klorida (Merck), dan natrium alginat (Sigma-Aldrich).

Preparasi nanopartikel

Deksametason natrium fosfat (DNF) sebanyak 200 mg dilarutkan ke dalam larutan natrium alginat 0,1% dalam botol vial dengan dihomogenisasi menggunakan ultrasonikator pada amplitudo 40% selama 1 menit sehingga terbentuk larutan DNF-alginat. Selanjutnya, disiapkan tiga botol

vial yang berisi 15 mL larutan DNF-alginat lalu masing-masing ditambahkan 10 mL larutan CaCl_2 *drop by drop* dengan *syring pump* di bawah putaran pengadukan selama 2 menit hingga terbentuk suspensi.^{1,4,6} Penelitian ini menggunakan 2 variasi rasio natrium alginat dan CaCl_2 , yaitu (5:1) dan (1:2), sekaligus menggunakan 3 jenis pengaduk: aerator, ultrasonikator, dan kombinasi aerator-ultrasonikator.^{7,11,12}

Tabel 1. Formula nanosuspensi DNF terjerap kalsium alginat

Formula	Konsentrasi (%)			Teknik
	DNF	Natrium alginat	CaCl_2	
a1	0,2	0,1	0,02	Aerasi
a2	0,2	0,1	0,2	Aerasi
b1	0,2	0,1	0,02	Ultrasonikasi
b2	0,2	0,1	0,2	Ultrasonikasi
c1	0,2	0,1	0,02	Aerasi dan ultrasonikasi
c2	0,2	0,1	0,2	Aerasi dan ultrasonikasi

Uji organoleptis

Uji organoleptis pada penelitian ini meliputi pengamatan terhadap warna (kekeruhan) sediaan suspensi yang dihasilkan.^{4,6}

Analisis ukuran dan morfologi partikel

Sediaan diambil 1 mL kemudian diencerkan ke dalam 5 mL aquabides kemudian diaduk perlahan hingga membentuk dispersi. Selanjutnya, diameter partikel dan zeta potensial diukur sebanyak 3 kali untuk masing-masing formula menggunakan alat *Particle Size Analyzer* dengan metode *Dynamic Light Scattering*.^{3,13}

Morfologi nanopartikel DNF diperiksa menggunakan *Scanning Electron Microscope*, dan *Transmission Electron Microscope*. Larutan sampel suspensi nanopartikel diteteskan pada *grid* tembaga. Larutan yang telah meresap dan kering kemudian dilapisi dengan karbon, lalu

dianalisis menggunakan SEM dan TEM sebanyak 3 kali percobaan.^{13,14}

Analisis efisiensi enkapsulasi

Larutan stok DNF dibuat dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ kemudian diencerkan untuk membuat larutan standar DNF 10 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya, larutan standar digunakan untuk menentukan panjang gelombang maksimum larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Kurva kalibrasi larutan DNF ditentukan dengan mengukur serapan larutan standar berkonsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, dan 30 $\mu\text{g/ml}$.

Perhitungan efisiensi enkapsulasi dilakukan dengan mengambil sebanyak 7 mL sampel yang dimasukkan ke dalam tabung vivaspin (300 kD WMCO), disentrifugasi pada 2000 rpm selama 1 jam, lalu diambil supernatan dan diukur jumlah deksametason natrium fosfat yang tidak terjerap dalam nanopartikel. Penetapan kadarnya dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang selanjutnya dihitung memakai persamaan berikut:^{4,15,16}

$$EE\% = \frac{DNF_T - DNF_b}{DNF_T} \times 100\%$$

Keterangan:

EE = efisiensi enkapsulasi

DNF_T = jumlah deksametason natrium fosfat

DNF_b = jumlah deksametason natrium fosfat yang bebas.

Analisis statistika

Hasil pembacaan ukuran partikel, indeks polidispersitas (*polydispersity index*, PDI), zeta potensial, dan efisiensi enkapsulasi dari masing-masing formula dianalisis menggunakan MANOVA untuk mengetahui perbedaan bermakna dari pengaruh teknik formulasi yang digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh variasi teknik formulasi terhadap organoleptis nanosuspensi DNF

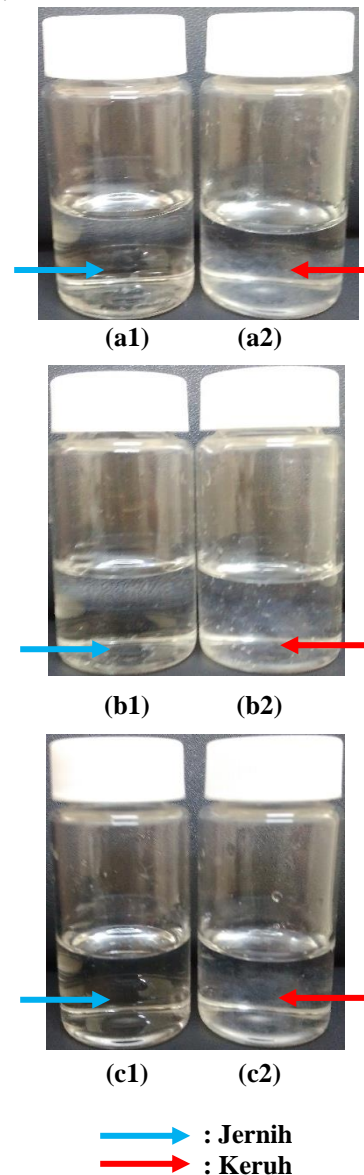
Variasi teknik formulasi (*low* dan *high energy*) yang digunakan memberikan perbedaan hasil kejernihan dan viskositas dari suspensi yang dihasilkan. Sugita, dkk melaporkan bahwa percepatan partikel, getaran, tekanan pancaran dan gaya gesek yang cepat dari teknik formulasi akan membentuk nanosuspensi.⁶ Aerator (formula a1 dan a2) yang digunakan dalam teknik *low energy* menimbulkan getaran kecil pada partikel melalui gerakan dan perputaran dari gelembung udara. Teknik *high energy* (formula b1 dan b2) yang memanfaatkan gelombang ultrasonik akan mengakibatkan getaran partikel yang sangat besar di dalam medium. Kombinasi dari kedua teknik (formula c1 dan c2) memberikan energi/getaran yang optimal sehingga menghasilkan nanosuspensi paling jernih karena kestabilan dan ukuran partikelnya.

Kejernihan juga dipengaruhi oleh konsentrasi CaCl_2 . Pada konsentrasi rendah (0,02%), partikel yang terbentuk tidak terlihat secara kasat mata karena dihasilkan sistem koloid yang memiliki partikel sangat halus seperti yang dipaparkan oleh Toscano, dkk.⁹ Akan tetapi, pada konsentrasi CaCl_2 tinggi (0,2%) diperoleh larutan yang sedikit keruh dan viskositas yang hampir seperti gel. Dari keenam formula yang dibuat, formula c1 dengan teknik kombinasi dan konsentrasi CaCl_2 0,02% merupakan sediaan nanosuspensi terbaik dari segi organoleptis (Gambar 1).

Pengaruh variasi teknik formulasi terhadap ukuran partikel nanosuspensi DNF

Finotelli, dkk memaparkan bahwa ukuran partikel yang kecil sangat dipengaruhi oleh percepatan partikel, getaran, tekanan pancaran, dan gaya gesek yang cepat dari teknik formulasi yang digunakan.⁷ Faktor penting dalam karakterisasi dan evaluasi dari sistem nanopartikel yaitu ukuran dan distribusi

ukuran partikel yang ditetapkan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) metode *Dynamic Light Scattering* (DLS).



Gambar 1. Hasil preparasi nanosuspensi kalsium alginat pembawa DNF dengan variasi konsentrasi CaCl_2 (1) 0,02% dan (2) 0,2% menggunakan teknik (a) aerasi, (b) ultrasonikasi, dan (c) aerasi dan ultrasonikasi

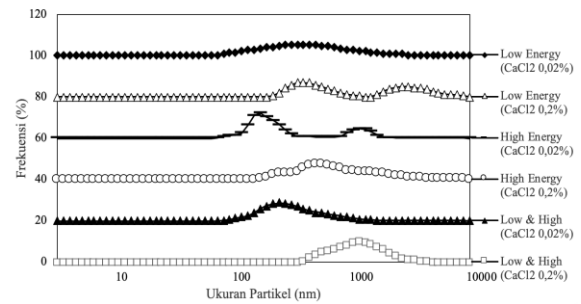
Suatu formula sudah dapat dikatakan sebagai sistem nanopartikel jika memiliki ukuran partikel dalam kisaran 1-1000 nm.^{2,3,17} Formula-formula yang dihasilkan sebagian besar telah memenuhi syarat ukuran yang bisa menembus jaringan epitel pada usus, yaitu berukuran di bawah 500 nm. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin cepat obat masuk ke dalam jaringan untuk dapat bekerja.² Teknik dan

konsentrasi CaCl_2 yang ditambahkan pada formula dapat berpengaruh terhadap karakteristik nanopartikel yang dihasilkan. Teknik yang menggunakan aerasi (*low energy*), teknik dengan percepatan partikel, getaran, dan gaya gesek kecil menghasilkan ukuran partikel yang lebih besar daripada teknik ultrasonikasi (*high energy*). Konsentrasi CaCl_2 berpengaruh terhadap muatan nanopartikel dari ikatan antara Ca^{2+} dengan anion alginat yang terbentuk dan nilai zeta potensial. Karakteristik sediaan hasil formula berdasarkan parameter fisik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik nanopartikel berdasarkan teknik formulasi nanopartikel DNF

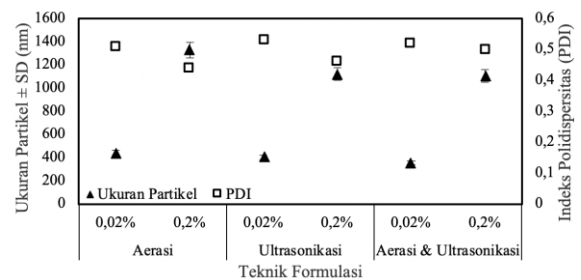
Parameter Uji	CaCl ₂ (%)	Teknik Formulasi		
		Aerasi	Ultra-sonik	Gabungan
Warna	0,02	Sedikit keruh	Sedikit keruh	Bening
	0,2	Sedikit keruh	Sedikit keruh	Sedikit keruh
pH	0,02	7,47	7,36	7,34
	0,2	7,34	7,33	7,36
Ukuran partikel (nm)	0,02	441,53 ± 92,69	401,27 ± 41,05	352,90 ± 6,10
	0,2	1327,47 ± 635,99	1119,33 ± 179,19	1103,27 ± 37,12
PDI	0,02	0,51 ± 0,09	0,53 ± 0,04	0,52 ± 0,04
	0,2	0,44 ± 0,38	0,46 ± 0,17	0,50 ± 0,15
Zeta potensial (mV)	0,02	-58,10 ± 0,66	-61,40 ± 0,36	-44,40 ± 0,4
	0,2	-19,73 ± 0,12	-11,70 ± 0,36	-14,70 ± 0,10

Formula CaCl_2 0,02% menggunakan teknik aerasi dan ultrasonikasi memiliki ukuran partikel terkecil ($352,90 \pm 6,10$ nm) dan polidispersitas atau homogenitas ukuran partikel terbaik yang ditandai dengan masing-masing hanya memunculkan satu puncak sempit dan tinggi, yaitu berturut-turut berkisar di antara 100-500 nm (Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh penggunaan teknik low dan high energy terhadap ukuran partikel nanosuspensi DNF.

Variasi konsentrasi CaCl_2 memberi pengaruh besar terhadap ukuran partikel nanosuspensi yang dihasilkan (Gambar 3). Konsentrasi kalsium klorida yang rendah mampu menghasilkan ukuran partikel berukuran nanometer karena pertumbuhan dan aglomerasi partikel rendah. Ini sesuai dengan hasil penelitian Khakim dan Atun bahwa penggunaan CaCl_2 dengan konsentrasi tinggi menyebabkan terlalu banyak ikatan antara Ca^{2+} dengan anion alginat yang terbentuk. Ikatan tersebut menyebabkan terbentuknya padatan terlarut sehingga apabila terlalu banyak akan menyebabkan ukuran partikel padatan semakin besar.¹²

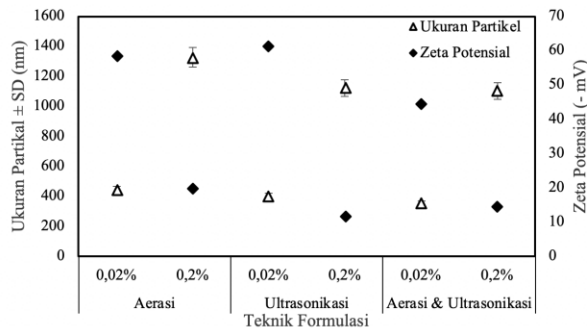


Gambar 3. Pengaruh teknik formulasi terhadap ukuran partikel dan indeks polidispersitas nanosuspensi, variasi konsentrasi CaCl_2 berpengaruh terhadap ukuran dan distribusi partikel.

Nilai distribusi dan keseragaman ukuran partikel nano dapat dilihat menggunakan indeks polidispersitas (*polydispersity index*, PDI). Nilai indeks polidispersi yang baik berada dalam dalam rentang <0,7.

Muatan pada permukaan suatu partikel dan kestabilan dari sediaan yang telah dibuat bisa dilihat melalui pengukuran

zeta potensial pada sistem koloid. Hasil pengukuran terhadap preparasi nanosuspensi yang telah dibuat menunjukkan bahwa muatan permukaan partikel adalah negatif (Gambar 4).



Gambar 2. Pengaruh teknik formulasi terhadap ukuran partikel dan zeta potensial nanosuspensi, konsentrasi CaCl₂ yang ditambahkan menurunkan nilai zeta potensial.

Sistem koloid dinyatakan stabil bila muatannya lebih dari +/- 30 mV. Dari beberapa formula yang dihasilkan, diketahui bahwa perbedaan teknik formulasi dan konsentrasi CaCl₂ memberikan pengaruh terhadap nilai zeta potensial seperti penjelasan Dhanka dkk.⁴ Konsentrasi CaCl₂ menurunkan nilai zeta potensial. Turunnya nilai zeta potensial mengakibatkan nanopartikel memiliki kecenderungan mengalami agregasi. Sementara itu, muatan tinggi akan mencegah terjadinya agregasi karena partikel saling tolak menolak satu sama lain. Formula c1 memiliki nilai zeta potensial 44,40 ± 0,4 mV. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan tersebut akan stabil karena memiliki zeta potensial yang mendekati +/- 30 mV.

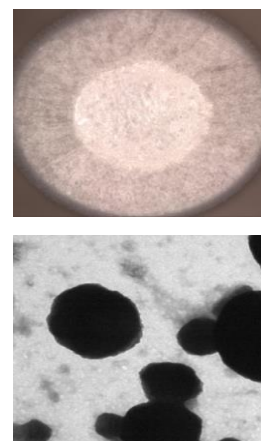
Tabel 3. Hasil analisis statistik pengaruh teknik formulasi terhadap karakteristik nanosuspensi menggunakan uji MANOVA

		Tests of Between-Subjects Effects					
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Teknik (CaCl ₂ 0,02%)	Ukuran Partikel	11816,607	2	5908,303	1,719	0,257	0,364
	PDI	0,001	2	0,000	0,078	0,926	0,025
	Zeta Potensial	494,402	2	247,201	984,429	0,000	0,997
	%EE	7,813	2	3,907	9542,094	0,000	1,000
Teknik (CaCl ₂ 0,2%)	Ukuran Partikel	93843,262	2	46921,631	0,321	0,737	0,097
	PDI	0,006	2	0,003	0,047	0,954	0,015
	Zeta Potensial	98,000	2	49,000	980,000	0,000	0,997
	%EE	159,783	2	79,892	1990377,244	0,000	1,000

Analisis statistik MANOVA dilakukan karena 1 variabel dependen berupa karakteristik nanosuspensi yang dipengaruhi teknik formulasi, dihubungkan dengan 4 variabel independen, yaitu ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, dan efisiensi enkapsulasi. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa teknik formulasi memberikan pengaruh secara signifikan terhadap ukuran partikel, PDI, nilai zeta potensial dan efisiensi enkapsulasi (%EE) nanosuspensi (Tabel 3).

Pengaruh variasi teknik formulasi pada morfologi nanosuspensi DNF

SEM dan TEM adalah alat yang dapat digunakan untuk melihat hasil enkapsulasi *crosslinker* dan menentukan bagaimana bentuk struktur dan morfologi suatu nanopartikel. Untuk uji morfologi ini hanya satu formula yang dianalisis yaitu formula dengan konsentrasi CaCl₂ 0,02% yang menggunakan teknik kombinasi *low* dan *high energy* karena dinilai sebagai formula yang paling optimal di antara formula yang lain ditinjau dari ukuran partikel, distribusi ukuran partikel dan zeta potensialnya.



Gambar 5. a) Lapisan enkapsulasi yang menyalut DNF terlihat dengan SEM perbesaran 10.000x; (b) Bentuk nanosuspensi hasil analisis menggunakan TEM 500x

Hasil analisis morfologi nanosuspensi menunjukkan bahwa pada nanopartikel yang dihasilkan terdapat lapisan enkapsulasi yang menyelubungi DNF dan

berbentuk *sferis* yang hampir bulat (Gambar 5), meskipun ada sebagian partikel yang masih bergabung. Ini disebabkan formula dengan konsentrasi CaCl_2 0,02% dengan teknik kombinasi *low* dan *high energy* memiliki nilai zeta potensial tinggi sehingga menurunkan potensi agregasi dengan tingginya tolakan antarpartikel. Partikel yang memiliki bentuk sferis lebih disukai karena akan mempertahankan obat yang dibawa.^{4,12,14}

Pengaruh variasi teknik formulasi terhadap nilai efisiensi enkapsulasi nanosuspensi DNF

Analisis efisiensi enkapsulasi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV/Vis. Deksmetason natrium fosfat memiliki gugus kromofor dan auksokrom yaitu gugus benzena dan gugus C=O yang dapat terdeteksi pada panjang gelombang maksimal 241,3 nm. Pada tahap ini dibuat kurva baku mulai dari 10 ppm hingga 30 ppm. Dari kurva tersebut diperoleh persamaan garis $y = 0,0294x - 0,0414$ dengan nilai $r^2 = 0,9998$. Persamaan ini digunakan untuk menentukan jumlah deksametason natrium fosfat yang terjerap di dalam *crosslinker* kalsium alginat. Efisiensi enkapsulasi dilakukan dengan metode ultrafiltrasi menggunakan membran dengan nilai *molecular weight cutoff* 300 kilodalton.

Efisiensi enkapsulasi penting untuk dilakukan terutama dalam sistem penghantaran obat karena nilainya bisa menggambarkan kemampuan *crosslinker* dalam membawa bahan aktif menuju target sasaran terapi.^{4,15,16}

Keseluruhan formula memiliki efisiensi enkapsulasi tidak berbeda jauh. Hal ini dikarenakan efisiensi enkapsulasi suatu partikel bergantung pada sifat kelarutan obat di dalam matriks atau polimernya, selain itu juga dipengaruhi oleh jumlah polimer yang digunakan pada tiap formula.⁹ Deksmetason natrium fosfat yang digunakan mudah larut di dalam polimer natrium alginat sehingga obat terjerap kuat dalam polimer/matriks. Formula c2 menjadi nanosuspensi dengan

%EE tertinggi dikarenakan konsentrasi CaCl_2 yang tinggi (0,2%) dan menggunakan teknik formulasi kombinasi yang optimal (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil penentuan efisiensi enkapsulasi nanopartikel

Hasil	CaCl ₂ (%)	Teknik Formulasi		
		Low Energy	High Energy	Low dan High Energy
%EE	0,02	49,8	47,7	49,5
	0,2	66,8	65,1	74,8

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa sintesis nanosuspensi kalsium alginat pembawa deksametason natrium fosfat menggunakan metode gelasi ionik dengan teknik kombinasi *low* dan *high energy* pada konsentrasi CaCl_2 0,02% menghasilkan formula paling optimal ditinjau dari beberapa karakteristik nanopartikel yang telah diperoleh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Jurusan Farmasi dan Pusat Penelitian Nanofarmasi Universitas Islam Indonesia yang sudah menunjang sarana dan prasarana dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Dubnika A, Loca D, Berzina-Cimdina L. Cross-linked dexamethasone sodium phosphate delivery systems based on silver doped hydroxyapatite scaffolds. *Key Engineering Material*. 2016;721:192–6.
2. Giron F, Pastó A, Tasciotti E, Abraham BP. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2019;25(12):1871–80.
3. Bhatia S. Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In: *Natural Polymer Drug*

- Delivery Systems. Springer, Cham; 2016. p. 33–93.
4. Dhanka M, Shetty C, Srivastava R. Methotrexate loaded alginate microparticles and effect of Ca²⁺ post-crosslinking: An in vitro physicochemical and biological evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2010;110:294–307.
 5. Hecht H, Srebnik S. Structural characterization of sodium alginate and calcium alginate. *Biomacromolecules*. 2016;17(6):2160–7.
 6. Sugita P, Ambarsari L, Lidiniyah. Optimization of ketoprofen-loaded chitosan nanoparticle ultrasonication process. *Procedia Chemistry*. 2015;16:673–80.
 7. Finotelli PV, Da Silva D, Sola-Penna M, Rossi AM, Farina M, Andrade LR, et al. Microcapsules of alginate/chitosan containing magnetic nanoparticles for controlled release of insulin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010;81(1):206–11.
 8. Reddy A, Majumder AB. Use of a combined technology of ultrasonication, three-phase partitioning, and aqueous enzymatic oil extraction for the extraction of oil from *Spirogyra* sp. *Journal of Engineering*. 2016;2014(November 2014).
 9. Toscano L, Montero G, Stoytcheva M, Cervantes L, Gochev V. Comparison of the performances of four hydrophilic polymers as supports for lipase immobilisation. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014;28(1):52–60.
 10. Zhu X, Liu Y, Zhou C, Zhang S, Chen J. Novel and high-performance magnetic carbon composite prepared from waste hydrochar for dye removal. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [Internet]. 2014;2(4):969–77. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/sc400547y>
 11. Tyagi LK, Shekhar R, Gaur K, Kori ML. Development and in-vitro characterization of Ca-alginate beads of oxytetracycline hydrochloride for oral use: effect of process variables. *American Journal of Pharmacological Sciences*. 2017;5(3):63–70.
 12. Khakim AN, Atun S. Pembuatan nanopartikel ekstrak kunci pepet (*Kaempferia rotunda*) dengan alginat pada berbagai variasi konsentrasi ion kalsium. *Jurnal Kimia Dasar*. 2017;6(1):43–51.
 13. Saberi AH, McClements DJ. Effect of glycerol on formation, stability, and properties of vitamin-E enriched nanoemulsions produced using spontaneous emulsification. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2013;411:105–13.
 14. Kaur K. Formulation and evaluation of metformin hydrochloride microspheres by ionotropic gelation technique [Internet]. Thapar University; 2013. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/d972/722dd9217349e6a78dc805a87d3264e5857d.pdf>
 15. Patel HM, Patel BB, Shah CN. Nanosuspension: A novel approach to enhance solubility of poorly water soluble drugs - A review. *International Journal of Advances in Pharmaceutics*. 2019;5(2):21–9.
 16. Kalepu S, Nekkanti V. Improved delivery of poorly soluble compounds using nanoparticle technology: a review. *Drug Delivery and Translational Research*. 2016;6:319–32.
 17. Shreya A, Raut SY, Managuli RS, Udupa N, Mutalik S. Active Targeting of drugs and bioactive molecules via oral administration by ligand-conjugated lipidic nanocarriers: Recent advances. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(15).

Optimasi Formula Krim Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynus*) Variasi Konsentrasi Asam Stearat, Trietanolamin, dan Gliserin

Cream Formula Optimization of Extract Katuk Leave (*Sauropus Androgynus*) Variation in Stearic Acid, Triethanolamine, and Glycerin Concentration

*Febia Arien Lestari**, *Wahida Hajrin*, *Nisa Isneni Hanifa*

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

**Email: febiaarien@gmail.com*

Diterima: 2 Desember 2019

Direvisi: 12 Februari 2020

Disetujui: 15 Juni 2020

Abstrak

Tanaman katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan polifenol yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan diketahui dapat berperan sebagai fotoprotektor sehingga dapat diformulasi menjadi sediaan krim tabir surya. Pemilihan basis krim sangat penting karena basis tidak hanya sebagai pembawa bahan aktif saja, namun juga dapat mempengaruhi sifat fisik dan efektivitas sediaan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi formula optimum basis krim dan evaluasi sediaan krim ekstrak daun katuk dengan variasi konsentrasi asam stearat, TEA, dan gliserin. Optimasi formula dilakukan melalui pendekatan metode *Simplex Lattice Design* dengan jumlah formula sebanyak 13. Hasil evaluasi uji sifat fisik basis krim diolah dengan perangkat lunak *Design Expert*. Hasil penelitian ini diperoleh formula optimum dengan konsentrasi asam stearat, gliserin, dan TEA secara berturut-turut sebesar 13,16%, 12%, dan 3,84%. Hasil evaluasi krim ekstrak daun katuk dengan formula optimum diperoleh daya sebar 4,89 cm, daya lekat 0,56 detik, dan pH 6,1. Hasil uji akseptabilitas menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak daun katuk dapat diterima dengan sangat baik oleh konsumen.

Kata kunci: Daun katuk; Krim; *Simplex Lattice Design*; *Design Expert*

Abstract

Sauropus androgynus (L.) Merr.) contain secondary metabolite compounds: flavonoids and polyphenols which has bioactivity as antioxidants. Antioxidants act as photoprotector, so it can be formulated into sun protection product. The selection of cream base is very important due to it's not only as vehicle of active ingredients but also affecting cream's physical properties and effectiveness. This study aims to determine the composition of the optimum base formula and evaluation formula cream of extract katuk leaves with variations concentration of stearic acid, TEA, and glycerin. Formula optimization was conducted through the *Simplex Lattice Design* methode with 13 formulas. The results of evaluation were processed with *Design Expert* software. The optimum formula was respectively at 13.16% stearic acid, 12% glycerin, and 3.84% TEA. The optimum formula cream evaluation was spreadability in 4.89 cm, 0.56 s stickiness power, and pH 6,1. Acceptability test results showed that the cream could accepted by society very well.

Keyword: Katuk leave; Cream; *Simplex Lattice Design*; *Design Expert*

PENDAHULUAN

Tanaman katuk (*Sauropus androgynus*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki senyawa metabolit sekunder dengan berbagai potensi.¹ Secara tradisional, daun katuk sering dijadikan obat untuk mengobati luka, memperlancar ASI, meredakan gangguan saluran kencing, diabetes, dan demam.² Potensi daun katuk tersebut juga didukung oleh penelitian tentang aktivitas farmakologi sebagai antibakteri, antiinflamasi, antianemia, dan meningkatkan produksi ASI.³

Hasil analisis skrining fitokimia Nurdianti dan Lilis menyatakan bahwa ekstrak etanol 96% daun katuk mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tannin, steroid, kuinon, monoterpenoid dan seskuiterpenoid.⁴ Penelitian yang dilakukan Diah menyatakan bahwa ekstrak etanol daun katuk memiliki daya antioksidan dengan nilai IC₅₀ terhadap DPPH sebesar 42,667 ppm.⁵ Menurut Nurdianti dan Lilis formulasi krim ekstrak daun katuk dengan konsentrasi 3% juga memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 55,85 ppm.⁴ Adapun senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam daun katuk adalah kuersetin dan kaempferol.¹

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tentang tingginya aktivitas antioksidan dari daun katuk, maka daun katuk berpotensi sebagai tabir surya. Kosmetik tabir surya dapat dibuat dari bahan sintesis seperti titanium oksida, zink oksida, dan PABA (*Para Amino Benzoic Acid*). Akan tetapi, bahan-bahan ini dapat menimbulkan reaksi alergi atau sensitivitas pada kulit.⁶ Salah satu alternatif untuk mengganti bahan-bahan tersebut adalah dengan memanfaatkan senyawa dari bahan alam yaitu senyawa fenolik. Senyawa ini dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara memutus reaksi inisiasi radikal bebas oleh transfer atom hidrogen atau transfer elektron membentuk radikal fenoksil.⁷ Senyawa fenolik mampu mencegah efek yang merugikan akibat radiasi UV pada kulit karena aktivitas antioksidannya sebagai fotoprotektif.⁸

Sediaan tabir surya yang biasa terdapat di pasaran adalah dalam bentuk lotion dan krim. Pada penelitian ini dibuat sediaan krim karena sediaan ini dapat mudah menyebar di atas permukaan kulit sehingga lebih nyaman untuk kebutuhan kosmetik.⁹ Krim merupakan sediaan semisolid yang mengandung satu atau lebih bahan aktif yang terdispersi dalam basis yang sesuai.¹⁰ Basis ini tidak hanya sebagai pembawa bahan aktif saja, namun juga dapat mempengaruhi efektivitas dari sediaan,¹¹ sehingga perlu dilakukan optimasi formula basis krim.

Optimasi formula dapat dilakukan dengan studi optimasi *Simplex Lattice Design* untuk memudahkan dalam merancang, menyusun, dan interpretasi data secara matematis.¹² Dalam penelitian ini akan dilakukan optimasi formula basis krim ekstrak daun katuk dengan variasi konsentrasi asam stearat, TEA, dan gliserin melalui pendekatan metode *Simplex Lattice Design*.

METODE

Alat dan bahan penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Ohaus), mortar dan stamper, *hot plate* (Labnet), pH meter (Hanna Instruments), kaca objek, beban 80 g dan 100 g, *stopwatch*, *rotary evaporator* (Hahn Shin) dan program perangkat lunak *Design Expert*® versi 10.0.1 sebagai pengolah data. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun katuk yang berasal dari daerah Lingsar Lombok Barat, petroleum eter (Bratachem), n-heksan (Bratachem), etanol (Brataco, 96%), aquades, trietanolamin (Merck), gliserin (Brataco), asam stearat (Merck), setil alkohol (Ecogreen oleochemical), metil paraben (Brataco), dan oleum citrii.

Prosedur kerja

Ekstraksi dan evaluasi ekstrak

Serbuk kering daun katuk direndam menggunakan petroleum eter (1:7,5) selama 1 hari untuk menghilangkan

klorofil. Ampas yang diperoleh kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96% (1:7,5) selama 1 hari dengan remaserasi sebanyak 2 kali.^{4,13} Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dalam satu wadah dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40-50°C.¹⁴ Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan evaluasi berupa identitas dan organoleptis ekstrak.

Deklorofilasi

Proses deklorofilasi mengikuti metode Pebriana dkk yang dimodifikasi. Ekstrak kental daun katuk dilarutkan dengan etanol 96% (1:10) kemudian diekstraksi cair-cair menggunakan n-heksan.¹⁵ Kedua fase dipisahkan. Fase etanol diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental untuk digunakan dalam formulasi krim.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak dilakukan menggunakan uji tabung yang terdiri dari uji alkaloid,¹⁶ flavonoid,¹⁷ saponin,¹⁸ tanin, dan polifenol.¹⁹

Formulasi dan optimasi basis krim

Sebanyak 13 formula dibuat berdasarkan hasil pengolahan data *Design Expert* sebagaimana tertera pada tabel 1. Asam stearat, TEA, dan setil alkohol (fase minyak) dilebur di atas penangas air pada suhu 70°C. Gliserin dan metil paraben (fase air) dilarutkan dalam air panas

dengan suhu 70°C. Fase minyak dimasukkan ke dalam mortar panas dan ditambahkan fase air kemudian digerus sampai terbentuk massa krim. Basis krim yang telah dibuat dievaluasi daya sebar, daya lekat, dan pH. Hasil evaluasi diolah menggunakan *Design Expert*.

Formulasi dan evaluasi sediaan krim ekstrak daun katuk

Krim ekstrak daun katuk dibuat berdasarkan formula basis yang optimum. Konsentrasi ekstrak daun katuk sebesar 3% ditambahkan ke dalam formula basis krim yang optimum. Sediaan krim ekstrak daun katuk dilakukan evaluasi berupa uji organoleptis, daya sebar, daya lekat, dan pH.

Pengujian organoleptis dilakukan dengan mengamati warna secara visual, konsistensi, dan bau krim. Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter.

Pengujian daya sebar dilakukan dengan meletakkan krim di atas kaca. Kaca lainnya yang telah diketahui beratnya kemudian diletakkan tepat di atasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter yang dibentuk oleh sediaan krim diukur menggunakan penggaris. Selanjutnya diberi beban 100 g selama 1 menit dan diukur kembali diameter yang terbentuk.²⁰

Pengujian daya lekat dilakukan dengan mengoleskan krim di atas kaca objek yang sudah diketahui luasnya.

Tabel 1. Rancangan optimasi formula basis

Run	Faktor			Bahan tambahan lain	
	Asam stearat (%)	Gliserin (%)	TEA (%)	Bahan	Konsentrasi(%)
1	15	12	2	Setil alkohol	0,5
2	12,5	14	2,5	Metil paraben	0,1
3	13,5	12	3,5	Oleum citrii	Secukupnya
4	12,5	12,5	4	Aquades	sampai 50
5	13	13	3		
6	13,5	13,5	2		
7	14	12,5	2,5		
8	12	15	2		
9	15	12	2		
10	12	12	5		
11	12	13,5	3,5		
12	12	12	5		
13	12	15	2		

Kaca objek yang lain diletakkan pada krim tersebut kemudian ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kaca objek tersebut dipasang pada alat uji kemudian diberi beban seberat 80 g dan dicatat waktu hingga kedua gelas objek terpisah.²⁰

Uji akseptabilitas krim ekstrak daun katuk

Uji akseptabilitas dilakukan terhadap 20 orang responden dengan menggunakan angket. Pengujian dilakukan dengan meminta tanggapan responden setelah menggunakan krim ekstrak daun katuk. Tanggapan yang diminta berupa warna, aroma, tekstur, kemudahan dicuci, dan kesan lengket.²¹ Penarikan kesimpulan akseptabilitas dilihat dari persentase nilai yang diperoleh dengan rumus sebagai berikut.

$$N = \frac{Sp}{Sm} \times 100\%$$

- N = Nilai yang dicari
- Sp = Rata-rata total skor
- Sm = Skor maksimum

Nilai persentase yang diperoleh selanjutnya dikatakan memiliki nilai akseptabilitas:

- a. Sangat baik, jika persentase $\geq 80\%$
- b. Baik, jika persentase 60-80%
- c. Cukup baik, jika persentase 40- 60%
- d. Kurang baik, jika persentase 20- 40%
- e. Tidak baik, jika persentase $\leq 20\%$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi dan verifikasi formula basis krim

Optimasi formula basis krim dilakukan dengan membuat 13 basis krim berdasarkan rancangan formula dengan variasi asam stearat, gliserin, dan TEA. Basis krim yang telah dibuat dievaluasi sifat fisiknya, meliputi: daya sebar, daya lekat, dan pH (Tabel 2). Ketiga sifat fisik tersebut dijadikan parameter respon untuk memperoleh formula optimum.

Berdasarkan nilai respon yang dihasilkan oleh masing-masing *run* formula maka diperoleh *contour plot* pada masing-masing respon (Gambar 1). Respon

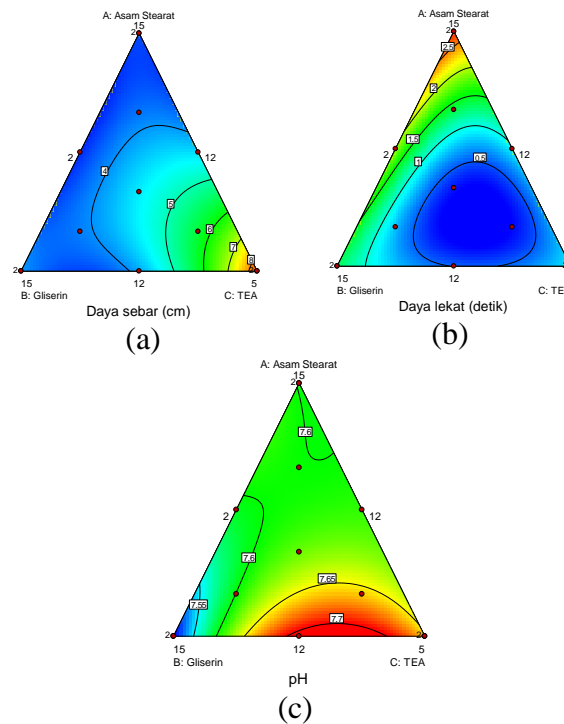
tertinggi ditunjukkan pada area berwarna merah. Respon yang semakin rendah ditunjukkan dengan area berwarna kuning, diikuti area berwarna hijau dan area berwarna biru dengan respon yang paling rendah. Pada *contour plot* dapat terlihat pula bahwa ketiga respon dipengaruhi oleh komponen asam stearat, gliserin, dan TEA.

Tabel 2. Hasil evaluasi respon daya sebar, daya lekat dan pH

Run	Respon		
	Daya sebar (cm)	Daya lekat (detik)	pH
1	3,25	2,82	7,6
2	4,525	0,34	7,6
3	4,475	1	7,6
4	5,325	0,27	7,7
5	4,275	0,79	7,6
6	3,2	2,09	7,6
7	4	0,86	7,6
8	3,975	0,79	7,5
9	3,975	2,79	7,6
10	8,725	0,82	7,7
11	4,125	0,53	7,7
12	8,3	0,92	7,6
13	3,875	1,91	7,5

Berdasarkan hasil analisis dan pengolahan data dengan *software Design Expert®* versi 10.0.1, dapat diketahui persamaan SLD untuk masing-masing respon (Tabel 3). Hasil persamaan menunjukkan pengaruh masing-masing komponen faktor maupun interaksinya terhadap nilai daya sebar, daya lekat, dan pH. Tanda positif (+) pada persamaan menunjukkan bahwa komponen asam stearat, gliserin, dan TEA meningkatkan nilai daya sebar, daya lekat, dan pH. Begitu pula sebaliknya, tanda negatif (-) pada persamaan menunjukkan bahwa komponen yang ada dapat menurunkan nilai daya sebar, daya lekat dan pH.

Respon komponen TEA memberikan pengaruh paling besar terhadap daya sebar (Tabel 3), sejalan dengan penelitian Gyawali dkk dimana TEA dapat menurunkan konsistensi krim sehingga krim menjadi lebih encer dan menyebabkan daya sebar meningkat.²²



Gambar 1. Contour plot parameter (a) daya sebar, (b) daya lekat, (c) pH

Tabel 3. Persamaan SLD masing-masing respon untuk formula basis krim

Respon	Persamaan SLD
Daya sebar	$Y = 3,63(A)+4,02(B)+8,44(C)-1,62(A)(B)-6,69(A)(C)-8,25(B)(C)+26,29(A)(B)(C)$
Daya lekat	$Y = 2,75(A)+1,31(B)+0,89(C)-0,56(A)(B)-3,57(A)(C)-2,43(B)(C)-16,18(A)(B)(C)$
pH	$Y = 7,60(A)+7,50(B)+7,66(C)+0,18(A)(B)-0,072(A)(C)+0,53(B)(C)-0,96(A)(B)(C)$

Keterangan: Y= respon; A = konsentrasi asam stearat; B= konsentrasi gliserin; C= konsentrasi TEA

Pada respon daya lekat, asam stearat memberikan pengaruh paling besar. Asam stearat dapat meningkatkan konsistensi krim dan membuat krim tampak lebih kaku, sehingga daya lekat krim meningkat.^{22,23} Pada respon pH, TEA memberikan pengaruh paling besar karena mengandung gugus basa yang membuat pH sediaan menjadi lebih tinggi seperti dilaporkan pada penelitian sebelumnya.²⁴

Berdasarkan hasil analisis data, komposisi formula optimum yang diperoleh dari *software Design Expert*® versi 10.0.1 adalah 13,16% asam stearat, 12% gliserin, dan 3,84% TEA dengan *desirability* sebesar 0,720. Adapun prediksi respon daya sebar sebesar 5 cm, respon daya lekat sebesar 0,762 detik, dan respon pH sebesar 7,617.

Hasil optimasi formula prediksi *software* selanjutnya dilakukan verifikasi.

Verifikasi formula optimum ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan bermakna antara respon yang diprediksi oleh *software* dengan respon yang dihasilkan pada percobaan. Analisis perbedaan dilakukan menggunakan analisis statistik *One sample t-test* (Tabel 4)

Tabel 4. Hasil *One Sample t-test* formula prediksi dibandingkan formula optimum percobaan

Respon	Prediksi	Percobaan	p-value
Daya sebar (cm)	5,000	5,69 ± 0,45	0,056 ^a
Daya lekat (detik)	0,762	0,66 ± 0,18	0,336 ^a
pH	7,617	7,60 ± 0,08	0,705 ^a

Keterangan: a= analisis *One sample t-test* (p>0,05)

Hasil analisis statistik menunjukkan formula optimum hasil percobaan menghasilkan respon tidak berbeda signifikan dengan prediksi *software* yang ditunjukkan dengan *p-value* >0,05. Hasil verifikasi ini memastikan bahwa optimasi dengan *software* dapat diterima.

Ekstraksi dan skrining fitokimia ekstrak

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun katuk. Secara organoleptis ekstrak daun katuk berwarna hijau kecoklatan, berbau khas serta pahit. Ekstrak daun katuk diperoleh dari proses maserasi serbuk daun katuk kering menggunakan pelarut petroleum eter untuk menghilangkan klorofil daun.²⁶ Ampas yang diperoleh kemudian dilakukan maserasi kembali dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Dari hasil tersebut diperoleh rendemen ekstrak sebesar 21,58%.

Setelah ekstrak daun katuk diformulasikan ke dalam bentuk sediaan krim, diperoleh krim yang secara organoleptis kurang menarik sehingga akan berdampak pada nilai akseptabilitas dari sediaan krim. Hal tersebut disebabkan proses penghilangan klorofil di awal proses ekstraksi belum optimal karena daya penetrasi petroleum eter ke dalam sel simplisia rendah sehingga diperlukan petroleum eter dengan jumlah lebih banyak untuk mengoptimalkan proses deklorofilasi. Oleh sebab itu, untuk mendapatkan sediaan krim ekstrak daun katuk yang *acceptable* maka dilakukan deklorofilasi kembali pada ekstrak kental yang diperoleh.

Klorofil merupakan senyawa yang bersifat non polar, sehingga untuk menarik klorofil diperlukan ekstraksi menggunakan pelarut yang juga bersifat non polar. Salah satu pelarut pengestraksi yang dapat digunakan adalah n-heksan. Penelitian Pebriana dkk menunjukkan bahwa n-heksan dapat menurunkan kadar klorofil pada ekstrak daun kenikir, mengkudu, dan mangga.¹⁵

Berdasarkan dua metode deklorofilasi yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa

proses deklorofilasi lebih efektif dilakukan setelah ekstraksi dibandingkan sebelum ekstraksi. Deklorofilasi yang dilakukan sebelum ekstraksi memerlukan jumlah pelarut yang lebih banyak sehingga tidak ekonomis. Selain itu, dibutuhkan waktu deklorofilasi yang lebih lama karena klorofil yang ingin dihilangkan masih berada dalam sel simplisia.

Berbeda dengan deklorofilasi setelah ekstraksi, jumlah pelarut yang digunakan tentunya lebih sedikit sehingga lebih ekonomis. Waktu yang diperlukan untuk proses deklorofilasi juga lebih cepat dibandingkan deklorofilasi sebelum ekstraksi karena klorofil sudah berada diluar sel simplisia sehingga lebih mudah dipisahkan dengan ekstraksi cair-cair. Skrining fitokimia pada ekstrak daun katuk dilakukan baik setelah maupun sebelum deklorofilasi (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun katuk

Pengujian	Hasil pengujian	
	Sebelum deklorofilasi	Setelah deklorofilasi
Saponin	-	-
Flavonoid	+	+
Tannin dan Polifenol	+	+
Alkaloid	-	-

Hasil skrining fitokimia pada ekstrak sebelum deklorofilasi maupun setelah deklorofilasi menunjukkan adanya kandungan flavonoid, tanin, dan polifenol. Sedangkan senyawa metabolit sekunder saponin dan alkaloid menunjukkan hasil yang negatif. Hasil negatif pada alkaloid, dapat disebabkan karena alkaloid tertarik pada saat ekstraksi dengan petroleum eter.²⁶ Hasil skrining fitokimia ekstrak daun katuk sesuai dengan hasil skrining fitokimia pada penelitian sebelumnya dimana ekstrak etanol 96% daun katuk mengandung polifenol, tanin, dan flavonoid dan tidak mengandung alkaloid dan saponin.²⁷

Formulasi dan evaluasi krim ekstrak daun katuk

Konsentrasi ekstrak daun katuk yang digunakan yaitu 3% berdasarkan Nurdianti dan Lilis yang menyatakan bahwa konsentrasi tersebut memberikan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC_{50} sebesar 55,85 ppm.⁴ Dilakukan evaluasi sediaan terhadap formula krim ekstrak daun katuk yang meliputi: uji organoleptis, daya sebar, daya lekat, pH, dan akseptabilitas. Uji organoleptis meliputi pengamatan bau, warna, dan konsistensi sediaan (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil uji organoleptis sediaan krim ekstrak daun katuk

Parameter	Hasil
Bau	Bau lemon dengan sedikit aroma khas ekstrak daun katuk
Warna	Hijau kekuningan
Konsistensi	Kental

Evaluasi daya sebar (Tabel 7) bertujuan untuk mengetahui daya menyebar krim saat dioleskan pada kulit dengan mengukur luas area penyebaran krim.²⁸ Kemampuan daya sebar dilihat dari diameter yang terbentuk setelah pemberian beban 100 g pada sediaan krim. Menurut Garg dkk daya sebar untuk sediaan semisolid dibagi menjadi dua, yaitu *semistiff* dan *semifluid*. Pada *semistiff* syarat daya sebar yang ditetapkan adalah 3-5 cm, sedangkan untuk *semifluid* adalah 5-7 cm.²⁹

Tabel 7. Hasil evaluasi daya sebar, daya lekat, dan pH krim ekstrak daun katuk

Evaluasi	Hasil
Daya sebar	4,89 ± 0,33 cm
Daya lekat	0,56 ± 0,14 detik
pH	6,1 ± 0,08

Hasil evaluasi daya sebar diperoleh daya sebar krim ekstrak daun katuk sebesar 4,89 cm. Sediaan krim ekstrak daun katuk memenuhi persyaratan daya sebar sediaan semisolid untuk *semistiff*. *Semistiff* adalah sediaan semisolid yang memiliki viskositas yang tinggi.²⁹

Evaluasi daya lekat (Tabel 7) bertujuan untuk mengetahui waktu sediaan melekat

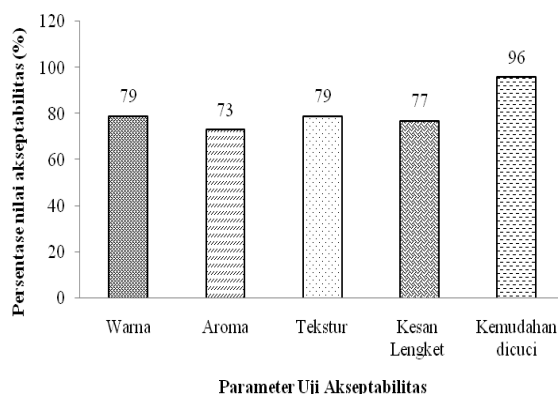
ketika diaplikasikan pada permukaan kulit. Semakin lama daya lekat krim, maka semakin lama juga penetrasi zat aktif ke dalam kulit sehingga terapi menjadi lebih optimal.³⁰ Hasil pengukuran menunjukkan bahwa daya lekat krim ekstrak daun katuk adalah sebesar 0,56 detik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak daun katuk memiliki daya lekat rendah, sehingga dibutuhkan pengulangan pengaplikasian krim.³¹ diharapkan dengan daya lekat yang rendah akan menambah nilai akseptabilitas dari sediaan krim karena lebih nyaman diaplikasikan pada kulit.³¹

Evaluasi pH dilakukan untuk mengevaluasi keamanan krim yang dihasilkan sehubungan dengan iritasi kulit. Nilai pH untuk sediaan krim ekstrak daun katuk ini adalah sebesar 6,1. Menurut Safitri dkk pH sediaan harus berada pada rentang 6,0-7,0 untuk mencegah terjadinya iritasi kulit.³² pH sediaan krim ekstrak daun katuk berada pada rentang yang tidak mengiritasi kulit.

Evaluasi terakhir yang dilakukan pada sediaan krim ekstrak daun katuk ini adalah uji akseptabilitas. Uji ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar sediaan krim ekstrak daun katuk yang dibuat dapat diterima (*acceptable*) oleh konsumen. Uji akseptabilitas ini meliputi: penilaian warna, aroma, kesan lengket, tekstur, dan kemudahan dicuci dengan air.

Sebanyak 20 responden diminta untuk menilai krim ekstrak daun katuk dengan skala penilaian 1-5 (Gambar 2). Berdasarkan persentase nilai akseptabilitas Parameter organoleptis warna, aroma, tekstur, dan kesan lengket dapat diterima dengan baik oleh konsumen.

Nilai akseptabilitas dari parameter kemudahan dicuci dapat diterima dengan sangat baik oleh responden. Hal ini disebabkan karena krim yang dibuat merupakan krim tipe M/A sehingga krim mudah dicuci dengan air.³³



Gambar 2. Hasil uji akseptabilitas krim ekstrak daun katuk

Dari kelima parameter uji akseptabilitas, parameter aroma memiliki nilai akseptabilitas paling rendah, yaitu sebanyak 73% responden dapat menerima aroma sediaan. Hal ini disebabkan karena pada sediaan krim, masih terdapat sedikit aroma dari ekstrak daun katuk. Nilai akseptabilitas secara keseluruhan menunjukkan sediaan krim ekstrak daun katuk dapat diterima dengan sangat baik oleh konsumen dengan nilai akseptabilitas sebesar 80,08%.

Tabel 8. Hasil One sample t-test basis krim dengan krim ekstrak daun katuk

Respon	Basis krim	Krim ekstrak daun katuk	p-value
Daya sebar (cm)	5,000	4,89 ± 0,33	0,541 ^a
Daya lekat (detik)	0,762	0,56 ± 0,14	0,060 ^a
pH	7,617	6,1 ± 0,08	0,000 ^b

Keterangan: a= analisis *One sample t-test* (p>0,05), b= analisis *One sample t-test* (p<0,05)

Hasil evaluasi sediaan krim ekstrak daun katuk (daya sebar, daya lekat, dan pH) ini dianalisis secara statistik menggunakan *One sample t-test*. Analisis secara statistik ini dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan sifat fisik antara basis krim optimum hasil pengolahan *software* dengan krim ekstrak daun katuk.

Hasil analisis (Tabel 8) menunjukkan terdapat pengaruh penambahan ekstrak terhadap nilai pH sediaan yang ditunjukkan

dengan p-value >0,05. Hal ini disebabkan juga oleh pH ekstrak etanol daun katuk yang cukup rendah yaitu 5,4 sementara untuk daya sebar dan daya lekat tidak terdapat pengaruh oleh adanya penambahan ekstrak.

KESIMPULAN

Formula basis krim optimum berdasarkan metode *Simplex Lattice Design* diperoleh variasi komposisi asam stearat, gliserin, dan TEA secara berturut-turut sebesar 13,16%, 12%, dan 3,84%. Hasil evaluasi krim ekstrak daun katuk diperoleh daya sebar 4,89 cm, daya lekat 0,56 detik, dan pH 6,1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada seluruh civitas akademika Program Studi Farmasi Universitas Mataram yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- Hidayat R, Safitri RAA, Umar TP, Maretzka A. The efficacy of sauropus androgynus leaves extract to improve cognitive function in wistar rats induced alzheimer's. *Bioscientia Medicina*. 2018;2(3):35–44.
- Bunawan H, Bunawan SN, Baharum SN, Noor NM. *Sauropus androgynus* (L.) Merr. induced bronchiolitis obliterans: from botanical studies to toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015 Aug;2015(714158):1–7.
- Majid TS, Muchtaridi. Aktivitas farmakologi ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Farmaka*. 2018;16(2):398–405.
- Nurdianti L, Tuslinah L. Uji efektivitas antioksidan krim ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 2017;17(1):87–96.
- Diah FN. Formulasi krim ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) sebagai antioksidan dengan variasi emulgator anionik dan nonionik [skripsi].

- Surakarta: Universitas Setia Budi; 2017.
6. Lees M. Skin care: beyond the basics. 4th ed. New York: Cengage Learning; 2012.
7. Yuslianti ER. Pengantar radikal bebas dan antioksidan. Yogyakarta: Dee publish; 2018.
8. Ebrahimzadeh MA, Enayatifard R, Khalili M, Ghaffarloo M, Saeedi M, Charati JY. Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity, Phenol, and Flavonoid Contents of some Medicinal Plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2014;13(3):1041–7.
9. Baki G, Alexander KS. Introduction to cosmetic formulation and technology. New Jersey: John Wiley & Sons; 2015.
10. Ma JKH, Hadjiza BW. Basic physical pharmacy. Burlington: Jones & Bartlett Learning; 2013.
11. Jankowski A, Dyja R, Sarecka-Hujar B. Dermal and transdermal delivery of active substances from semisolid bases. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017;79(4):488–500.
12. Florentia S. Optimasi formula tablet hisap ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) menggunakan campuran pengisi laktosa-sorbitol dengan metode Simplex Lattice Design [skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2013.
13. Roosdiana A, Yudandi SA, Erika A. The potency of ethanolic extract of *Sauropus androgynus* (L.) Merr leaves as therapeutic herbal of rats (*Rattus norvegicus*) peptic ulcer model induced by aspirin. International Conference on Chemistry and Material Science. 2017 Nov; Bristol, England: IOP publishing ltd; 2018. p.1-5
14. Hasimun P, Aligita W, Nopitasari I. Anti-anemic and analgesic activity of *Sauropus androgynous* L Merr on female mice model. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research. 2018;8(1):98–102.
15. Pebriana RB, Lukitaningsih E. Deklorofilasi ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan daun mangga (*Mangifera indica* L.) dengan teknik elektrokoagulasi. Traditional Medicine Journal. 2017;22(3):190–8.
16. Susanti N, Budiman I, Warditiani N. Skrining fitokimia ekstrak etanol 90% daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). Jurnal Farmasi Udayana. 2014;3(1):83–6.
17. Shanmugam S, Kumar TS, Selvam KP. Laboratory handbook on biochemistry. 2nd ed. Delhi: PHI Learning Private Limited; 2019.
18. Arief D, Sangi M, Kamu V. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak biji aren (*Arenga pinnata* MERR.). Jurnal MIPA. 2017;6(2):12–5.
19. Darmawijaya IP. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun pancasona (*Tinospora coriaceae* Beumee.). Virgin: Jurnal Ilmiah Kesehatan dan Sains. 2015;1(1):69–75.
20. Azkiya Z, Ariyani H, Nugraha TS. Evaluasi sifat fisik krim ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. var. rubrum) sebagai anti nyeri. Journal of Current Pharmaceutica Sciences. 2017;1(1):12–8.
21. Astuti D, Husni P, Hartono K. Formulasi dan uji stabilitas fisik sediaan gel antiseptik tangan minyak atsiri bunga lavender (*Lavandula angustifolia* Miller). Farmaka. 2017;15(1):176–84.
22. Gyawali R, Paudel N, Shrestha S, Silwal A. Formulation and evaluation of antibacterial and antioxidant polyherbal lotion. Journal of Institute of Science and Technology. 2016;21(1):148–56.
23. Saryanti D, Setiawan I, Safitri RA. Optimasi formula sediaan krim M/A dari ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata* L.). Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia. 2019;1(3):225–37.
24. Ng E. Optimasi krim sarang burung walet putih (*Aerodramus fuciphagus*) tipe M/A dengan variasi emulgator sebagai pencerah kulit menggunakan simplex lattice design [skripsi]. Pontianak: Universitas Tanjungpura; 2013.
25. Bosca F, Ticona JC, Giménez A, Flores N, Chuqui R, Barge A, et al. Chlorophylls: from evanta by product to natural porphyrin source. Journal of Universities and International Development Cooperation. 2017;1:35–42.
26. Aniszweski T. Alkaloid: Chemistry, biology, ecology, and applications. 2nd ed. Oxford: Elsevier; 2015.
27. Desnita R, Luliana S, Anastasia DS, Yuswar MA. Antiinflammatory Activity patch ethanol extract of leaf katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2018;16(1):1–5.
28. Dina A, Pramono S, Sugihartini N.

- Optimasi komposisi emulgator dalam formulasi krim fraksi etil asetat ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2017;15(2):134–9.
29. Garg A, Aggarwal D, Garg S, Singla A. Spreading of semisolid formulations an update. *Pharmaceutical Technology*. 2002;26(9):84–105.
30. Putranti W, Dewi NA, Widiyastuti L. Standardization of extract and characterization of emulgel formula of lengkuas (*Alpinia galangan* (L.) Wild) rhizome extract. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 2018;15(2):81–91.
31. Elcistia R, Zulkarnain AK. Optimasi formula sediaan krim o/w kombinasi oksibenzon dan titanium dioksida serta uji aktivitas tabir suryanya secara in vivo. *Majalah Farmaseutik*. 2018;14(2):63–78.
32. Safitri NA, Puspita OE, Yurina V. Optimasi formula sediaan krim ekstrak stroberi (*Fragaria x ananassa*) sebagai krim antipenuaan. *Majalah Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Braijaya*. 2014;1(4):235–46.
33. Allen L, Ansel H. *Ansel's : Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.

Preparation of Curcumin-Liposomes using pH-Driven Method to Enhance Stability and Encapsulation Efficiency

Preparasi Liposom Kurkumin Menggunakan Metode Pengaturan pH untuk Meningkatkan Stabilitas dan Efisiensi Penjerapan

*Fransiska Christydira Sekaringtyas**, Swasmi Purwajanti, Etik Mardliyati, Sri Ningsih

Center for Pharmaceutical and Medical Technology – Agency for the Assessment and Application of Technology

Puspiptek Serpong, South Tangerang, Banten, Indonesia

**E-mail: fransiska.christydira@bppt.go.id*

Diterima: 31 Januari 2020

Direvisi: 7 Februari 2020

Disetujui: 22 April 2020

Abstract

Curcumin, a hydrophobic polyphenol, derived from turmeric, has numerous pharmacological activities, including hepatoprotective, antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anticarcinogenic. However, the therapeutic efficacy of curcumin is limited due to its poor oral bioavailability and high susceptibility to degradation. The poor oral bioavailability of curcumin has been attributed to its poor aqueous solubility and extensive first pass metabolism. Curcumin dissolves in alkaline conditions but it is highly unstable undergoing rapid hydrolytic degradation in neutral or alkaline condition. To solve these problems, liposome-based encapsulation technology is applied to improve the bioavailability of curcumin. The existing method to prepare curcumin-liposome, thin-film method, is complex and usually required the use of organic solvents. In this study, pH-driven method, an organic solvent-free and easily encapsulation technique utilizing the pH-dependent solubility of curcumin was proposed to improve the stability and bioavailability. Curcumin-liposomes were prepared using phospholipon 90 H and soya lecithin as phospholipid sources. The characterizations of curcumin-liposomes include particle size, microstructure, encapsulation efficiency, infrared spectra, salt stability and storage stability. The particle size measured was 77.85 ± 0.39 nm. It was found that curcumin-liposomes prepared by the pH-driven method was stable during storage for 30 days and gave encapsulation efficiency of $60.71 \pm 0.20\%$, higher as compared to the ones prepared by thin-film method. In conclusion, pH-driven is a promising method for the preparation of curcumin-liposomes to enhance stability and encapsulation efficiency.

Keywords: Curcumin; Liposome; Phospholipon 90 H; Soya lecithin; pH-driven method

Abstrak

Kurkumin merupakan senyawa polifenol hidrofobik yang berasal dari kunyit, memiliki berbagai aktivitas farmakologi, antara lain sebagai hepatoprotektif, antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba, dan antikanker. Namun, efektivitas terapi kurkumin terkendala bioavailabilitas oral kurkumin yang rendah dan rentan degradasi. Bioavailabilitas oral kurkumin yang rendah dikaitkan dengan buruknya kelarutan kurkumin dalam air dan tingginya efek metabolisme lintas pertama. Kurkumin larut dalam kondisi basa, namun menjadi tidak stabil dan terdegradasi dalam kondisi netral atau basa. Untuk mengatasi hal tersebut, digunakan teknologi enkapsulasi berbasis liposom yang dapat meningkatkan bioavailabilitas kurkumin. Metode terdahulu untuk membuat liposomal kurkumin adalah hidrasi lapis tipis, suatu metode yang kompleks dan memerlukan penggunaan pelarut organik. Dalam penelitian ini, digunakan metode pengaturan pH, metode bebas pelarut organik dengan teknik enkapsulasi yang mudah berdasarkan ketergantungan kelarutan kurkumin pada pH, untuk meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas. Liposom kurkumin dipreparasi menggunakan phospholipon 90 H dan soya lecithin sebagai fosfolipid. Karakterisasi liposom kurkumin meliputi ukuran partikel, struktur mikro, efisiensi penjerapan, spektrum inframerah, pengaruh kekuatan ionik terhadap stabilitas, serta stabilitas penyimpanan. Liposom kurkumin yang dihasilkan memiliki ukuran partikel $77,85 \pm 0,39$ nm, stabil selama 30 hari penyimpanan, serta memiliki efisiensi penjerapan $60,71 \pm 0,20\%$, lebih tinggi dibandingkan dengan liposom kurkumin yang dipreparasi dengan metode hidrasi lapis tipis. Metode pengaturan pH merupakan metode yang menjanjikan dalam menyiapkan liposom kurkumin untuk meningkatkan stabilitas dan efisiensi penjerapan.

Kata kunci: Kurkumin; Liposom; Phospholipon 90 H; Soya lecithin; Metode pengaturan pH

INTRODUCTION

Curcumin, a natural hydrophobic polyphenol derived from rhizomes of *Curcuma longa* Linn. (Zingiberaceae), has numerous medicinal benefit effects, including hepatoprotective, antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, and anticarcinogenic activities.¹ In spite of its efficacy, curcumin has not yet been approved as a therapeutic agent because of its low water solubility, low oral bioavailability, and high susceptibility to degradation.^{2,3} The several strategies have been performed to overcome these drawbacks. Numerous researches have reported on the use of various curcumin formulations toward improving the solubility as well as bioavailability of curcumin in aqueous systems, including nanoparticles, cyclodextrins, micelles, liposomes, and emulsions.⁴ Among these approaches, encapsulating curcumin in liposomes has become one of the most promising methods because of its excellent compatibility of hydrophilic and hydrophobic molecules. Feng et al. have succeeded to entrap curcumin in liposomes and the result showed that liposomal curcumin suppressed pancreatic carcinoma growth in murine xenograft models and inhibited tumor angiogenesis.³

Liposome is a spherical vesicle with phospholipid bilayer which can encapsulate both hydrophilic and hydrophobic components in the inner aqueous phase and incorporating them into the lipid bilayers, respectively.^{5,6} Curcumin-liposomes (CLs) have been prepared by the thin film method, as well as the properties and stability of these CLs have been widely studied by a number of groups. Nevertheless, the organic solvents used in this method is unacceptable for oral drug delivery.^{5,7} Recently, an organic solvent-free encapsulation, the pH-driven method, was developed. This method is based on the deprotonation and dissolution of hydrophobic phytochemicals under alkaline conditions followed by neutralization to encapsulate the precipitated hydrophobic phytochemicals.⁷ The previous study showed

that curcumin-liposomes which were formed using a single compound of phospholipid with pH-driven method had the average diameter more than 200 nm (~217.5 nm) and encapsulation efficiency ~62,8% with relatively intermediate stability which little bit precipitation was observed after the stability test.² The stability of curcumin liposomes has potential to be improved by reducing the particle size and enhance the encapsulation efficiency.

In this research, curcumin was encapsulated in liposomes using two compounds of phospholipid with the pH-driven method to improve its stability and encapsulation efficiency for the further aim as a hepatoprotective agent. The encapsulation efficiency and particle size of curcumin-liposomes formed by the pH-driven method (PDM-CLs) were compared to curcumin-liposomes prepared using the thin film method (TFM-CLs). The stability study of the PDM-CLS and TFM-CLs after treatment with sodium chloride solution and storage for 30 days were also evaluated.

METHODS

Materials used in this research was Curcumin (Sigma Aldrich, $\geq 65\%$, China). Phospholipon 90 H [consisting mainly of phosphatidylcholine (96.9%), lysophosphatidylcholine (1.5%), triglycerides (0.3%)] (Lipoid GmbH, Ludwigshafen, Germany). Lecithin from Soya (grant from Zhejiang University, China). Methanol, chloroform and other reagents were all of the analytical grades.

Preparation of curcumin-liposomes

Curcumin-liposomes were prepared by the pH-driven method and the thin film method. The phospholipid concentration was 10 mg/mL, and the curcumin feed concentration was 0.4 mg/mL.² The phospholipid ratio (w/w) between phospholipon 90 H and soya lecithin was 1:1.

pH-driven method

Curcumin and phospholipid were added to pure water grade II and stirred for 4 hours

at room temperature. The pH of the solution was then adjusted to 12.0 with 4 M NaOH. After stirring for 20 minutes, the pH of the solution was adjusted back to 5.3 with 4 M HCl. The curcumin-liposome suspension was further sonicated (on ice, 1 x 30 min) using a probe sonicator (Sonics, Vibra Cell, USA) and the PDM-CLs were then collected.^{2,7}

Thin-film method

Briefly, curcumin and phospholipid were dissolved in chloroform and methanol (2:1 v/v), and the organic solvents were then evaporated using a rotary evaporator. The thin film was hydrated with phosphate buffer (pH 7.4) and prepared the curcumin-liposome suspension. The curcumin-liposome suspension was further sonicated (on ice, 1 x 30 min) using a probe sonicator (Sonic, Vibra Cell, USA) and the TFM-CLs were collected.^{1,3,8,9}

Characterization of curcumin-liposomes particle size

The particle size of curcumin-liposomes (PDM-CLs and TFM-CLs) were measured using Partica LA-950V2 Laser Scattering Particle Size Analyzer (Horiba, Japan) with a fraction cell system. All data presented are the averages of at least triplicate measurements.

Microstructure

The microstructure of pH-driven method curcumin-liposomes (PDM-CLs) was analyzed using a transmission electron microscope (TEM). Briefly, a drop of PDM-CLs was placed onto a carbon-coated copper grid. After 3 minutes, the copper mesh grid was stained with acetic uranyl for 4 minutes and air-dried at room temperature after removing the excess liquid with filter paper. The sample was examined under a JEM-1400 transmission electron microscope (JEOL, Ltd., Tokyo, Japan) at a voltage of 120 kV.

Encapsulation efficiency (EE)

The curcumin-liposomes were centrifuged at 10,000 rpm for 30 min using a MIKRO 22 R centrifuge (Hettich

Zentrifugen, Germany) to separate unencapsulated curcumin. The concentration of free curcumin (supernatant) was determined by UV-Vis spectrophotometry. At 421 nm, the absorbance of free curcumin was calculated from the calibration curve, and encapsulation efficiency was then calculated by the following equation^{1,10}:

$$EE (\%) = \frac{\text{total curcumin added} - \text{free curcumin}}{\text{total curcumin added}} \times 100\%$$

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

The infrared spectra of PDM-CLs, phospholipid and curcumin were separately obtained using Nicolet iS10 FTIR Spectrometer (Thermo Fisher Scientific Inc, Madison, USA). The samples were placed on Smart iTR™ Attenuated Total Reflectance (ATR) accessory composed of diamond crystal as sample handling technique at a controlled ambient temperature (25°C). The samples were scanned by an infrared spectrometer over the range from 4000 to 400 cm⁻¹.¹¹

Stability study

Salt stability

The influence of ionic strength on the stabilities of the PDM-CLs and TFM-CLs was determined by treatment with several concentrations of NaCl solution (10, 50, 100, 200, 500, and 1000 mM) for 1 hour at room temperature.² The appearance of the samples was observed after incubation for 1 hour in room temperature and after 3 days at 4°C.

Storage stability

To evaluate the shelf life, the PDM-CLs and TFM-CLs were stored in a container at 4°C.² Changes in the particle size and encapsulation efficiency were investigated every five days during storage for one month.

RESULT AND DISCUSSION

Preparation and characterization of PDM-CLs

The process for preparing pH-driven method curcumin liposomes (PDM-CLs) is illustrated in Figure 1. The amounts of

curcumin and phospholipid were mixed to pure water grade II and agitated for 4 hours at room temperature. After agitation for 4 hours, the phospholipid was fully dissolved and had self-assembled into liposomes with an average diameter of 11.58 μm . The encapsulation efficiency (EE) of curcumin into liposome was 12.91% \pm 0.26%, which indicate the liposomes had been prepared by dissolving the phospholipid in water and the curcumin was loaded into liposomes but with low EE. The liposomes solution was then adjusted to pH 12.0 using 4 M NaOH to dissolve curcumin. Under alkaline conditions, the amount of curcumin loaded into liposomes decreased as well as deprotonated curcumin become unstable, deep red in color, and water-soluble.² This observation prompted us to examine the stability of curcumin-liposomes at pH 12.0. In the previous study, the curcumin was completely dissolved after 20 minutes, indicating that decomposition was negligible, thus the curcumin-liposomes could be safely prepared at pH 12.0.⁷ After 20 minutes, the solution was adjusted back to pH 5.3 using 4 M HCl, and the PDM-CLs were collected. The average diameter and EE of the PDM-CLs were 77.85 nm \pm 0.39 nm and 60.71% \pm 0.20%, respectively.

There are two noticeable phenomena associated with the pH-driven method. First, the particle size of the liposomes decreased dramatically from 11.58 μm to 77.85 nm after adjusting the pH. This reduction

diameter might due to the osmotic force generated by the ionic gradient across the membrane and lead to the evacuation of water from the inner core of the liposome.^{7,12} Second, the EE of the curcumin-liposomes increased from 12.91% to 60.71% in the pH-driven process. This phenomenon can be explained by the different states of curcumin. Curcumin is insoluble (hydrophobic) at pH 5.3 and soluble (hydrophilic) at pH 12.0. When curcumin and phospholipid are mixed in water at low pH, the hydrophobic form of curcumin is not in contact with the liposomal membrane.² During the pH-driven process, curcumin was dissolved in water at pH 12.0 and made full contact with the liposomal membrane. When the pH decreased to 5.3, the curcumin was transformed from the hydrophilic form to the hydrophobic form and diffused into the liposomal membrane driven by hydrophobic forces.²

The apparent microstructure of curcumin-liposomes using TEM (Figure 2) showed that the PDM-CLs were spherical define shapes and multilamellar vesicles. In pH-driven method, the phospholipid is dissolved in water and self-assembles into liposomes. Since there is no ethanol present in the preparation process, the phospholipid molecules do not form bilayer fragments.^{6,12} As a result, the liposomes prepared by the pH-driven method are more likely to assemble into multilamellar membrane structures.¹³

FTIR was examined to further verify

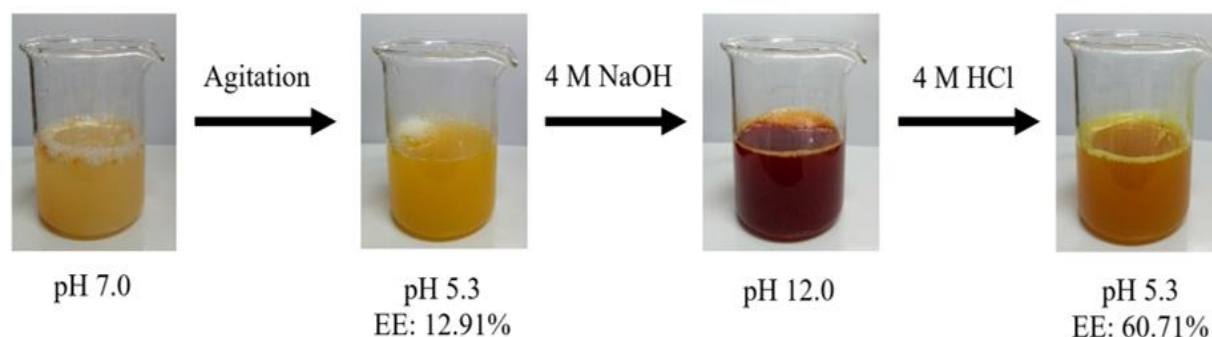


Figure 1. The schematic process of pH-driven method curcumin-liposomes

whether curcumin was successfully incorporated into the liposomes. The FTIR spectrum of curcumin powder, phospholipid and PDM-CLs are presented in Figure 3.

Curcumin exhibited its signature peaks at 3505 cm^{-1} (phenolic O-H stretching vibration), 1626 cm^{-1} (aromatic moiety C=C stretching), 1599 cm^{-1} (benzene ring stretching vibration), 1503 cm^{-1} (C=O and C=C vibrations), 1425 cm^{-1} (olefinic C-H bending vibration), 1270 cm^{-1} (aromatic C-

O stretching vibration), 1024 cm^{-1} (C-O-C stretching vibration).¹⁴ On the other hand, the phospholipid showed their typical peaks at 2358 and 2341 cm^{-1} (the CH_2 stretching vibration), 1735 cm^{-1} (symmetrical C=O stretching vibration), 1649 cm^{-1} (water scissoring band) and 1195 cm^{-1} (PO_4 antisymmetric stretching band).¹⁵

When curcumin was incorporated into the liposomes, the peak location and shape were similar to the phospholipids at

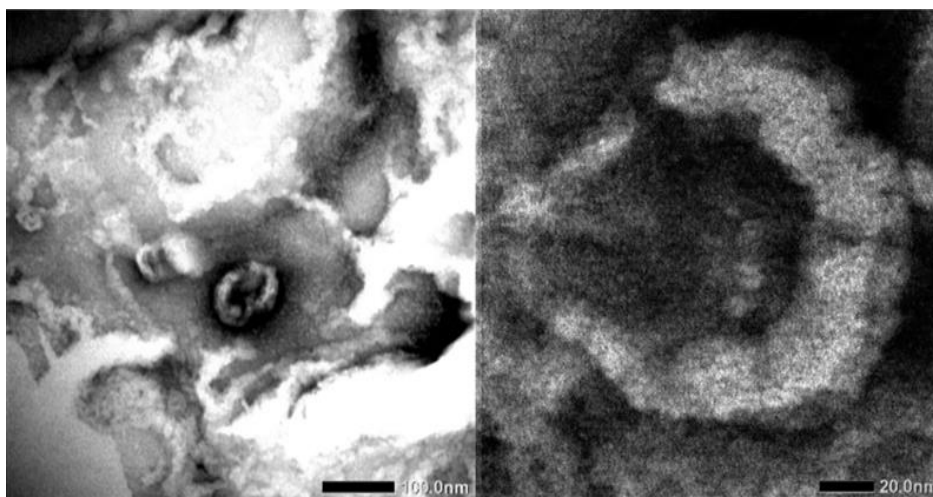


Figure 2. TEM micrograph of PDM-CLs

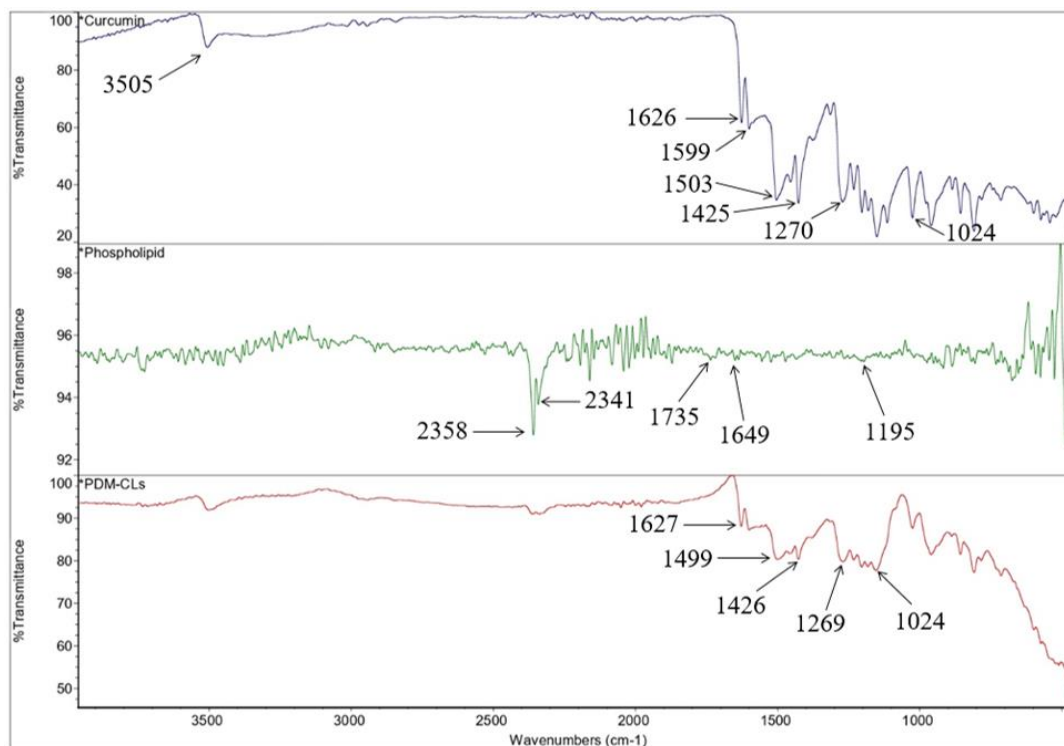


Figure 3. The FTIR spectrum of curcumin powder (A); phospholipid (B); and PDM-CLs (C)

2358 cm^{-1} and 2341 cm^{-1} (CH_2 vibration absorption), 1735 cm^{-1} (symmetrical $\text{C}=\text{O}$ stretching vibration absorption) and 1195 cm^{-1} (PO_4 antisymmetric stretching bands).

Meanwhile, the PDM-CLs represented peaks at 1627 cm^{-1} (aromatic moiety $\text{C}=\text{C}$ stretching), 1499 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ and $\text{C}=\text{C}$ vibrations), 1426 cm^{-1} (olefinic $\text{C}-\text{H}$ bending vibration), 1269 cm^{-1} (aromatic $\text{C}-\text{O}$ stretching vibration) and 1024 cm^{-1} ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$ stretching vibration), which are the characteristic peaks of curcumin and indicated the existence of curcumin in the liposome.¹¹ The peaks of curcumin encapsulated in liposomes were shifted from 1503 to 1499 cm^{-1} which exhibited an interaction between curcumin and phospholipid, as well as the disappearance peak of 3505 cm^{-1} in PDM-CLs spectrum indicated the interaction between the phenolic $-\text{OH}$ of curcumin and phospholipid, most likely through hydrogen bonding.^{11,16} The absorption of curcumin main peak's wane and the peaks shifted when curcumin encapsulated in liposomes suggesting that the curcumin molecules were located inside the liposomes, consequently, the signature spectrum of curcumin was hidden.¹⁶

Stability of PDM-CLs

The average diameter and encapsulation efficiency (EE) of curcumin-liposomes were measured every five days during storage for one month at 4°C (Table 1 and Figure 4). The TFM-CLs were

unstable during storage and displayed particle swelling, and there was leakage of curcumin which was marked by the precipitation after storage for 30 days (Figure 5A). The amount of curcumin encapsulated by the TFM-CLs decreased from 43.64% to 24.94%, and the particle size increased dramatically from 88.82 nm to 7557.58 nm. This phenomenon is probably caused by the heating during the process of hydrating a thin film which makes curcumin becomes unstable and precipitates after several days of storage. On the other hand, the PDM-CLs were relatively stable during storage for 30 days and there was not any precipitation occurred (Figure 5B). The amount of curcumin encapsulated by the PDM-CLs decreased slightly from 60.71% to 51.78%, as well as the particle size increased from 77.85 nm to 200.66 nm after 30 days at 4°C. These results indicate that PDM-CLs are stable during storage at 4°C with little leakage of curcumin.

The influence of ionic strength on the stability of the PDM-CLs and TFM-CLs was evaluated by observing the visual appearance of curcumin-liposomes after incubation with different concentration of NaCl for 1 hour at room temperature and after storage for 3 days at 4°C (Figure 6). Although NaCl was produced during the preparation of PDM-CLs, it presented a relatively PDM-CLs, it presented a relatively low concentration and did not influence the results of the stability study.²

Table 1. The result of average diameter and encapsulation efficiency of PDM-CLs and TFM-CLs during storage for 30 days at 4°C

Storage Time (day)	Average Diameter (nm)		Encapsulation Efficiency (%)	
	PDM-CLs	TFM-CLs	PDM-CLs	TFM-CLs
0	77.85 ± 0.39	88.82 ± 0.12	60.71 ± 0.20	43.64 ± 2.59
5	84.50 ± 0.21	83.11 ± 1.30	52.79 ± 2.40	36.37 ± 2.55
10	88.63 ± 0.24	398.72 ± 0.53	53.31 ± 1.22	35.33 ± 2.63
15	200.30 ± 0.23	620.15 ± 1.26	50.64 ± 2.05	34.45 ± 0.52
20	200.71 ± 0.55	616.14 ± 1.68	55.66 ± 1.27	35.56 ± 2.12
25	199.83 ± 0.08	7305.25 ± 108.91	52.66 ± 0.54	31.58 ± 1.33
30	200.66 ± 0.31	7557.58 ± 240.88	51.78 ± 0.59	24.94 ± 3.32

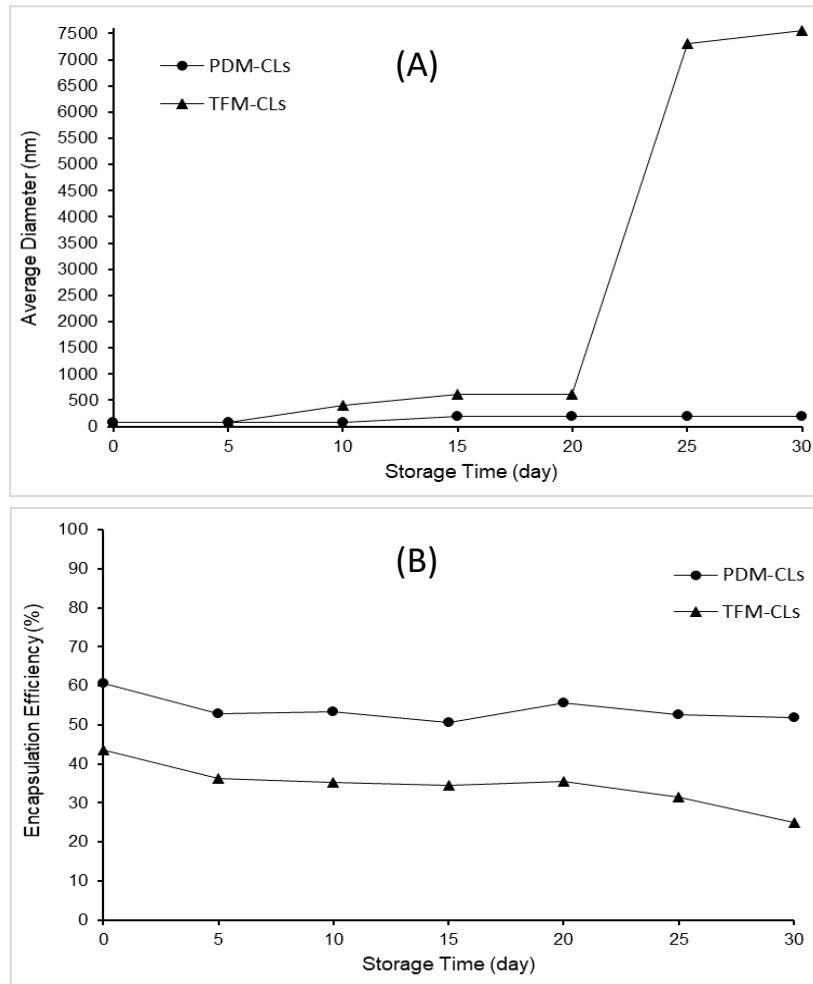


Figure 4. The changes in average diameter (A) and encapsulation efficiency (B) of PDM-CLs and TFM-CLs during storage for 30 days at 4°C

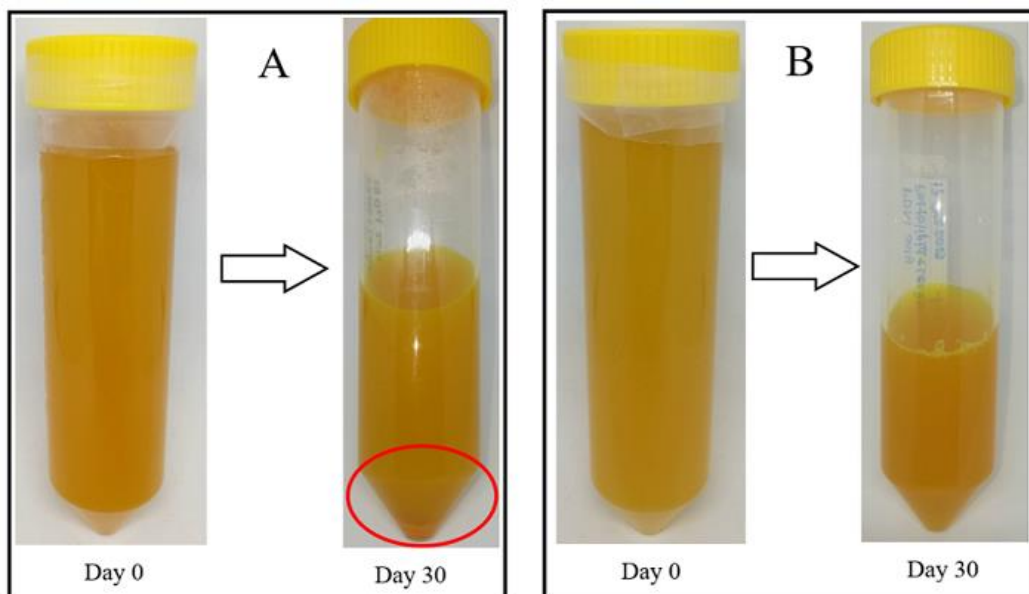


Figure 5. The visual appearance of TFM-CLs (A) and PDM-CLs (B) after storage for 30 days at 4°C

The transparency of the PDM-CLs decreased after treatment with 500 mM and 1000 mM NaCl for 1 hour until 3 days. Moreover, the TFM-CLs also become turbid after treatment with 500 mM and 1000 mM NaCl for 1 hour, and some precipitation were observed at high concentration of NaCl (> 200 mM) after 3 days treatment. These results indicate that TFM-CLs are sensitive to changes in ionic strength.⁹ On the other hand, PDM-CLs have intermediate stability at low concentration of NaCl (≤ 200 mM) and less stable at higher concentration of NaCl solution (> 200 mM).

When the ionic gradient across the liposomal membrane is too high, an osmotic force is generated and water flows out of the liposomes to compensate for the high external ion concentration.¹⁷ This causes a reduction in particle size until the maximum compaction of the bilayer is reached.² This phenomenon was not observed in the PDM-CLs because it had already occurred during liposome formation. Liposomal dispersions are thermodynamically unstable. According to

the extended Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek theory, there are two main repulsive forces, the electrostatic force and hydration force.^{2,7} At relatively low concentration of NaCl (< 200 mM), the electrostatic and hydration forces were sufficiently strong to overcome the attractive force, thus all of the two liposomal formulations were stable. At relatively high concentration of NaCl (> 500 mM), the counter-ions in NaCl screen the electrostatic repulsive force acting between the particles.¹⁷ In this condition, the stability of liposomes decreases which the PDM-CLs were more stable than TFM-CLs.

Based on the result of this research, it observed that the use of two compounds phospholipid could reduce the particle size of curcumin-liposomes which made it stable during storage compared to the previous study which only used a single compound. The smaller of liposomal particle size will be resulting in better stability.

On the other hand, the use of two compounds of phospholipid does not

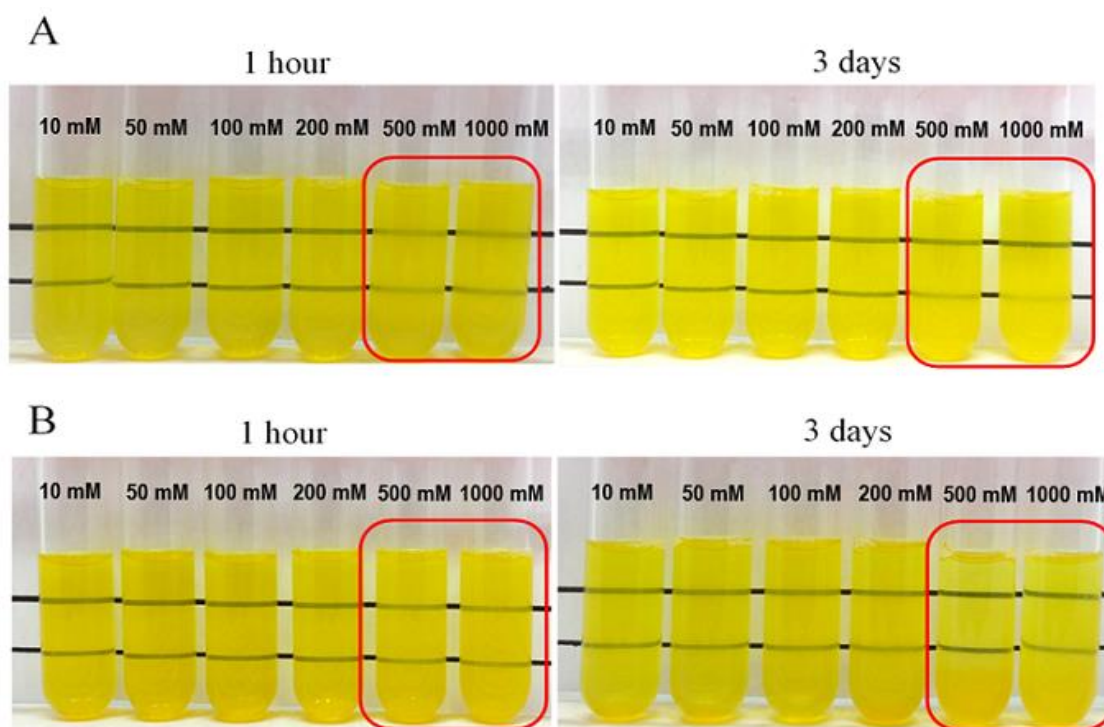


Figure 6. Effect of NaCl concentration on the visual transparency of PDM-CLs (A) and TFM-CLs (B) after storage for 1 hour at room temperature and 3 days at 4°C

increase the encapsulation efficiency of curcumin-liposomes. The result showed that encapsulation efficiency still stayed at around 60% as same as the uses of a single compound phospholipid. This probably depends on the type of phospholipid is used which will affect the character of the hydrophobic layer being occupied by curcumin.

CONCLUSION

The curcumin-liposomes could be prepared using the pH-driven method which based on the self-assembly behavior of phospholipid in water and the diffusion of curcumin into liposomal membranes by hydrophobic forces. The result showed that the PDM-CLs with two compounds of phospholipid have good encapsulation efficiency, nano-scale liposomal particle size, and high stability during storage. The pH-driven method is a promising method to prepare curcumin-liposomes with organic solvent-free, simple equipment and easy to control.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the materials support from Zhejiang University under the joint lab on biotechnology Agency for The Assessment and Application of Technology (BPPT) - Zhejiang University scheme.

REFERENCES

1. Konatham S, Nyathani HK, Bonepally CR, Yeannameneni PK, Aukunuru J. Liposomal delivery of curcumin to liver. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;7(2):89–98.
2. Cheng C, Peng S, Li Z, Zou L, Liu W, Liu C. Improved bioavailability of curcumin in liposomes prepared using a pH-driven, organic solvent-free, easily scalable process. *Royal Society of Chemistry Advances*. 2017;7(42):25978–86.
3. Feng T, Wei Y, Lee RJ, Zhao L. Liposomal curcumin and its application in cancer. *International Journal of Nanomedicine*. 2017;12:6027–44.
4. Lu Y, Ding N, Yang C, Huang L, Liu J, Xiang G. Preparation and in vitro evaluation of a folate-linked liposomal curcumin formulation. *Journal of Liposome Research*. 2012;22(2):110–9.
5. He H, Lu Y, Qi J, Zhu Q, Chen Z, Wu W. Adapting liposomes for oral drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2019;9(1):36–48.
6. Laouini A, Charcosset C, Fessi H, Holdich RG, Vladisavljević GT. Preparation of liposomes: a novel application of microengineered membranes-from laboratory scale to large scale. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;112:272–8.
7. Pan K, Luo Y, Gan Y, Baek SJ, Zhong Q. pH-driven encapsulation of curcumin in self-assembled casein nanoparticles for enhanced dispersibility and bioactivity. *Soft Matter*. 2014;10(35):6820–30.
8. Basnet P, Hussain H, Tho I, Skalko-Basnet N. Liposomal delivery system enhances anti-inflammatory properties of curcumin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;101(2):598–609.
9. Peng S, Zou L, Liu W, Li Z, Liu W, Hu X, et al. Hybrid liposomes composed of amphiphilic chitosan and phospholipid: Preparation, stability and bioavailability as a carrier for curcumin. *Carbohydrate Polymers*. 2017;156:322–32.
10. Kumar N, Rai A, Reddy ND, Raj PV, Jain P, Deshpande P, et al. Silymarin liposomes improves oral bioavailability of silybin besides targeting hepatocytes, and immune cells. *Pharmacological Reports*. 2014;66(5):788–98.
11. Chen X, Zou LQ, Niu J, Liu W, Peng SF, Liu CM. The stability, sustained release and cellular antioxidant activity of curcumin nanoliposomes. *Molecules*. 2015;20(8):14293–311.
12. Patil YP, Jadhav S. Novel methods for liposome preparation. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2014;177:8–18.
13. Hasan M, Ben Messaoud G, Michaux F, Tamayol A, Kahn CJF, Belhaj N, et al. Chitosan-coated liposomes encapsulating curcumin: study of lipid-polysaccharide interactions and nanovesicle behavior. *Royal Society of Chemistry Advances*. 2016;6(51):45290–304.
14. Yallapu MM, Jaggi M, Chauhan SC. β -Cyclodextrin-curcumin self-assembly enhances curcumin delivery in prostate

- cancer cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010;79(1):113–25.
15. Zou L, Peng S, Liu W, Gan L, Liu W, Liang R, et al. Improved in vitro digestion stability of (-)-epigallocatechin gallate through nanoliposome encapsulation. *Food Research International*. 2014;64:492–9.
 16. Paramera EI, Konteles SJ, Karathanos VT. Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry*. 2011;125(3):892–902.
 17. Liu W, Liu W, Ye A, Peng S, Wei F, Liu C, et al. Environmental stress stability of microencapsules based on liposomes decorated with chitosan and sodium alginate. *Food Chemistry*. 2016;196:396–404.

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* (Linn.)) sebagai Antihiperurisemia

The Effectivity of Ethanol Extracts of *Durio zibethinus* (Linn.) Leaves as Antihyperuricemia

Rela Sonia¹, Yusneli², Fitrianiingsih^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

*E-mail: fitrianiingsih@unja.ac.id

Diterima: 29 Agustus 2019

Direvisi: 31 Januari 2020

Disetujui: 20 Juli 2020

Abstrak

Daun durian (*Durio zibethinus* (Linn.)) diketahui mampu menghambat kerja dari enzim xantin oksidase yang dapat mengurangi pembentukan asam urat dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun durian dalam menurunkan kadar asam urat pada mencit yang dibuat hiperurisemia dengan diinduksi jus hati ayam 0,2 mL/20 gBB dan kalium oksonat 250 mg/kgBB. Mencit yang digunakan adalah mencit dengan kadar asam urat di atas 3,3 mg/dL atau 6,2-7,1 mg/dL. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan, masing-masing ulangan terdiri dari 3 mencit. Kelompok perlakuan adalah K+= Allopurinol 10 mg/kgBB; K-= CMC-Na 0,5%; P1= ekstrak 50 mg/kgBB; P2= ekstrak 100 mg/kgBB; P3= ekstrak 200 mg/kgBB; P4= ekstrak 250 mg/kgBB. Pengukuran kadar asam urat dilakukan pada H-0 dan H-6 setelah induksi diet tinggi asam urat, serta H-15 setelah pemberian perlakuan masing-masing kelompok. Data dianalisis dengan uji *One Way Anova* dan uji lanjut *Post Hoc Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun durian mampu menurunkan kadar asam urat di dalam darah mencit dengan persentase penurunan tertinggi terdapat pada kelompok P2 (100 mg/kgBB) sebesar 40,53%, diikuti dengan P1 (50 mg/kgBB) sebesar 38,68%. Persentase penurunan kadar asam urat terendah terdapat pada kelompok P4 (250 mg/kgBB) sebesar 22,36%, diikuti dengan kelompok P3 (200 mg/kgBB) sebesar 27,71% dan nilai ED₅₀ terdapat pada dosis 61,65 mg/kgBB. Ekstrak etanol daun durian berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar asam urat total pada mencit dan memiliki potensi sebagai obat antihiperurisemia.

Kata kunci: Antihiperurisemia; Ekstrak etanol daun durian; In vivo

Abstract

Durian (*Durio zibethinus* Linn.) leaves are known to inhibit the xanthine oxidase enzyme which can reduce uric acid levels in the blood. The purpose of study is to determine the effectiveness of ethanol extracts of durian leaves in reducing uric acid levels in hyperuricemic mice. The mice were induced with chicken's liver juice 0,2 mL/20 gBW and potassium oxonate 250 mg/kgBW. The animals were mice with uric acid levels above 3,3 mg/dL or 6,2-7,1 mg/dL. The study was used a completely randomized design (CRD) with six treatments and three replications, with three mice in each replications. The treatments group were K+: Allopurinol 10 mg/kgBW; K-: CMC-Na 0.5%; extracts in group P1, P2, P3, P4 are 50; 100; 200; 250 mg/kgBW. The measurements of uric acid levels were performed on day-0, day-6 after induction, and day-15 after administering each group. The data obtained were analyzed by *One Way Anova* test followed by *Duncan's Post Hoc* further test. The results showed that durian leaves could reduce uric acid levels in mice blood with the highest percentage reduction was in P2 (100 mg/kgBW) group of 40,53%, followed by P1 (50 mg/kgBW) of 38,68%. The lowest percentage was in the P4 group (250 mg/kgBW) of 22,36%, followed by the P3 group (200 mg/kgBW) of 27,71% and the ED₅₀ value was 61,65 mg/kgBW. In conclusion, ethanol extracts of durian leaves has a significant effect on decreasing total uric acid levels in mice and has potential as an antihyperuricemia agent.

Keywords: Antihyperuricemia; Ethanol extracts of durian leaves; In vivo

PENDAHULUAN

Perkembangan zaman yang terjadi pada saat ini dapat menyebabkan berbagai perubahan dalam kehidupan. Salah satu dampak pada kesehatan yaitu pola makan yang tidak sehat dengan kandungan purin yang tinggi serta kurang olahraga sehingga menyebabkan berbagai gangguan kesehatan seperti obesitas, peningkatan kolesterol, dan asam urat. Asam urat merupakan produk akhir dari degradasi purin dalam darah yang tidak mempunyai fungsi secara fisiologis. Asam urat dalam darah pada kondisi normal yaitu 3,4-7,0 mg/dL pada laki-laki dan 2,4-5,7 mg/dL pada wanita. Asam urat pada keadaan normal dapat memiliki fungsi yang baik bagi tubuh yaitu sebagai antioksidan. Hiperurisemia adalah suatu keadaan yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar asam urat di dalam darah yang melebihi batas normal yaitu pada laki-laki di atas 7,0 mg/dL dan wanita di atas 6,0 mg/dL. Prevalensi hiperurisemia di seluruh dunia mengalami peningkatan. Berdasarkan data *Global Burden of Diseases* (GBD) menunjukkan prevalensi hiperurisemia di Indonesia sebesar 18%.^{1,2,3}

Hiperurisemia dapat diobati dengan pemberian obat yang dapat menurunkan kadar asam urat dan menghambat pembentukan asam urat dalam tubuh seperti penggunaan obat sintesis allopurinol yang menghambat xantin oksidase. Penggunaan allopurinol dalam jangka panjang cenderung menimbulkan efek samping seperti mual, muntah, diare, neuritis perifer, anemia aplastika, dan meningkatkan frekuensi serangan gout akut dengan inisiasi terapi.^{4,5} Oleh karena itu, diperlukan obat dari bahan alam yang dapat menurunkan kadar asam urat dengan efek samping yang relatif kecil dibandingkan dengan obat sintesis, selain itu juga dapat digunakan sebagai senyawa penuntun untuk menemukan obat baru.

Masyarakat memanfaatkan bagian dari daun durian untuk pengobatan karena memiliki aktivitas sebagai penurun demam, antifungi pada genus *candida*, gangguan pernafasan, dan penyembuhan

luka. Daun durian juga memiliki khasiat sebagai antibakteri dan anestesi.^{6,7}

Daun durian mempunyai senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida, tanin, dan steroid/triterpenoid. Senyawa yang dapat berpotensi sebagai antihiperurisemia adalah flavonoid dan fenolik. Flavonoid memiliki aktivitas antiradikal bebas melalui penekanan radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS), yaitu dengan cara penghambatan kerja enzim/kerusakan sel atau pengkhelatan ion logam yang terdapat dalam produksi radikal bebas. Flavonoid mampu menurunkan kadar asam urat dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas. Senyawa fenolik juga diduga memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia karena mampu menghambat kerja dari enzim xantin oksidase.^{8,9,10} Xantin oksidase merupakan enzim kunci pada manusia, terutama pada metabolisme purin dengan bertindak sebagai katalis reaksi hidroksilasi oksidatif hipoxantin menjadi xantin dan hasil selanjutnya adalah pembentukan asam urat.¹¹ Jalur ini merupakan jalur degradasi purin dengan penurunan O₂ di pusat flavin dan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS), baik radikal anion superoksida atau hidrogen peroksida.¹²

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa kulit buah durian memiliki aktivitas antihiperurisemia pada mencit putih jantan dengan penurunan kadar asam urat sebesar 0,37±0,25 mg/dL.¹³ Secara empiris, bagian daun durian dimanfaatkan masyarakat Provinsi Jambi terutama Muaro Jambi sebagai pengobatan sakit pinggang, penurun demam, dan asam urat. Data ilmiah diperlukan untuk membuktikan khasiat daun durian sebagai penurun asam urat. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji efek dari ekstrak etanol daun durian sebagai antihiperurisemia.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan penelitian acak lengkap. Kegiatan penelitian yang

dilakukan adalah pembuatan simplisia dan ekstrak daun durian, identifikasi ekstrak, uji organoleptis, penentuan susut pengeringan dan kadar abu, skrining fitokimia ekstrak daun durian, pembuatan larutan uji, dan uji efektivitas antihiperurisemia.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain *rotary evaporator* (Buchi R-114[®]), oven, blender (Philips[®]), timbangan analitik (*Ohaus*[®]), pengukur asam urat digital (*Easy touch GCU*[®]), strip asam urat (*Easy touch GCU*[®]).

Bahan yang digunakan adalah kalium oksonat 250 mg/kgBB (Sigma A[®]) dengan pelarut NaCl fisiologis 0,9% (Ecosol[®]), jus hati ayam, etanol 70% (Brataco[®]), CMC-Na teknis 0,5%, allopurinol 100 mg/kgBB (Kimia Farma[®]), etanol 96% teknis (Brataco[®]), aquadest, FeCl₃ 1% PA (Merck[®]), H₂SO₄ pekat PA (Merck[®]), HCl pekat PA (Merck[®]), asam asetat anhidrida, serbuk Mg, reagen Dragendorff, reagen Mayer.

Prosedur kerja

Pengambilan sampel

Sampel daun durian (*D zibethinus* Linn.) diperoleh dari Kabupaten Batanghari, Kecamatan Pamayung, Kelurahan Selat. Jumlah daun durian yang dibutuhkan pada penelitian ini sebanyak 4 kg dan pengambilan daun durian dilakukan secara langsung dengan cara pemetikan.

Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.

Pembuatan serbuk simplisia

Pembuatan simplisia meliputi tahapan yaitu sortasi basah, pencucian dengan air mengalir, perajangan, pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa

menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu.¹⁴

Pembuatan ekstrak daun durian

Pembuatan ekstrak daun durian dilakukan menggunakan serbuk kering simplisia yang selanjutnya dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak dibuat dengan memasukkan satu bagian serbuk kering ke dalam maserator, lalu ditambahkan 10 bagian pelarut. Selanjutnya direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat yang didapat dipisahkan dengan filtrasi. Maserat yang didapat dikumpul dan maserasi lagi sebanyak 2 kali dengan menggunakan pelarut yang sama. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan modifikasi hingga menjadi ekstrak kental.^{13,14}

Penentuan parameter nonspesifik

Susut pengeringan

Ekstrak ditimbang seksama sebanyak 1 g dengan krus porselen tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan dengan menggoyangkan krus porselen, kemudian tutupnya dibuka dan krus dibiarkan dalam keadaan mendingin dalam desikator hingga suhu kamar. Bobot yang diperoleh dicatat untuk menghitung persentase susut pengeringan.¹⁵

Kadar abu

Ekstrak ditimbang sebanyak 2 g dengan seksama ke dalam krus yang telah ditara, kemudian dipijarkan perlahan-lahan dan suhu dinaikkan secara bertahap hingga 600±25°C sampai bebas karbon. Selanjutnya didinginkan dalam desikator dan ditimbang kadar abu dalam persen terhadap berat sampel awal.¹⁵

Parameter spesifik

Identitas

Identifikasi tata nama meliputi nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan, dan nama Indonesia tumbuhan.¹⁵

Organoleptis

Identifikasi organoleptis menggunakan panca indera dengan mendeskripsikan bau, bentuk, rasa, dan warna.¹⁵

Skrining fitokimia

Uji alkaloid

Ekstrak dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan yang didapat dibagi menjadi 2 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan pereaksi Dragendorff sebanyak 3 tetes dan tabung kedua ditambah pereaksi Mayer 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung pertama dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung kedua menunjukkan adanya alkaloid.¹⁶

Uji flavonoid

Ekstrak dicampur dengan 5 mL etanol 96%, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi. Lalu ditambahkan serbuk Mg 0,2 g dan 3 tetes HCl 2N. Terbentuknya warna merah, kuning, dan orange menunjukkan adanya flavonoid.¹⁷

Uji steroid

Ekstrak dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrida. Selanjutnya campuran tersebut ditetesi dengan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol, sedangkan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid.¹⁶

Uji saponin

Ekstrak ditambahkan dengan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan

penambahan 1 tetes HCl 2N memberikan indikasi adanya saponin.¹⁶

Uji fenolik

Sejumlah ekstrak ditambahkan 3-4 tetes larutan besi (III) klorida (FeCl_3). Terbentuknya warna biru-hitam menunjukkan adanya fenolik.¹⁸

Uji efektivitas antihiperurisemia

Pembuatan suspensi CMC-Na 0,5%

Sebanyak 0,05 g Na-CMC ditaburkan merata ke dalam lumpang yang berisi air panas 1 mL dan dibiarkan selama 5 menit lalu diaduk sampai homogen. Selanjutnya ditambahkan sampai 10 mL air panas dan digerus sampai homogen.¹⁹

Pembuatan jus hati ayam

Hati ayam ditimbang sebanyak 37 g dan ditambahkan air sebanyak 5 ml, kemudian hati ayam dihaluskan menggunakan *blender* sampai halus sekitar 15 menit. Volume pemberian hati ayam pada mencit adalah 0,2 mL/20 gBB.²⁰

Pembuatan kalium oksonat

Kalium oksonat digunakan sebagai penginduksi hiperurisemia dengan dosis 250 mg/kgBB. Kalium oksonat ditimbang sebanyak 325 g dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL, kemudian ditambahkan NaCl 0,9% sebanyak 13 mL.²¹

Pembuatan suspensi allopurinol

Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah 10 mg/kgBB. Allopurinol digunakan sebagai kontrol positif. Pembuatan allopurinol dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 0,024 g, lalu disuspensikan dalam 10 mL larutan CMC Na 0,5%, kemudian aduk sampai homogen.²²

Pembuatan suspensi ekstrak etanol daun

Ekstrak etanol daun durian ditimbang dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 250 mg/kgBB. Masing-masing dimasukkan ke dalam lumpang dan ditambahkan CMC-Na 0,5% sebanyak 10

mL tiap masing-masing dosis ekstrak dan digerus sampai homogen.²³

Perlakuan hewan uji

Hewan uji dibagi secara acak lengkap dalam 6 kelompok. Semua kelompok diberikan induksi kalium oksonat 250 mg/kgBB dan jus hati ayam 0,2 mL/20 gBB selama enam hari. Kelompok I adalah kontrol negatif dimana mencit diberikan suspensi Na-CMC 0,5%, kelompok II adalah kontrol positif, yaitu mencit yang diberikan suspensi allopurinol 10 mg/kgBB. Kelompok III, IV, V, dan VI adalah kelompok yang diberikan dosis ekstrak etanol daun durian masing-masing 50, 100, 200, dan 250 mg/kgBB.

Pengukuran kadar asam urat

Pengukuran kadar asam urat dilakukan dengan sedikit modifikasi dari metode yang digunakan oleh Amir (2018).²⁴ Uji efektivitas antihiperurisemia menggunakan metode POCT dengan sampel yang diperoleh dari vena lateralis ekor mencit sepanjang 0,1-0,3 cm. Mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama tujuh hari sebelum dilakukan percobaan. Selanjutnya mencit dipuaskan selama 10-16 jam. Kemudian pada hari ke-0 (H-0) tiap kelompok perlakuan diukur kadar asam urat awal dengan meneteskan darah yang berasal dari vena lateralis ekor mencit pada test strip dan darah akan langsung meresap sampai ujung strip dalam waktu 20 detik.²⁴

Pada hari selanjutnya (hari ke-1 sampai hari ke-6), mencit diberikan larutan kalium oksonat 250 mg/kgBB satu kali sehari dan jus hati ayam 0,2 mL/20 gBB dua kali sehari (pagi dan sore) secara per oral selama enam hari. Pada hari ke-6 (H-6), satu jam setelah pemberian induksi, diukur kadar asam urat mencit tiap kelompok. Pada hari ke-7 sampai hari ke-15 (setiap hari selama sembilan hari) dilakukan pemberian perlakuan berdasarkan kelompoknya. Pada hari ke-15 (H-15) diukur kadar asam urat pada setiap kelompok setelah satu jam pemberian perlakuan.²⁴

Perhitungan persentase penurunan kadar asam urat darah :

$$\text{Penurunan} = \frac{\text{Kadar pada saat Hiperurisemia} - \text{Kadar Sampel (Hari)}}{\text{Kadar pada saat Hiperurisemia} - \text{Kadar Normal}} \times 100\%$$

Analisis data

Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun durian diamati secara deskriptif. Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas data (*One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*) terlebih dahulu untuk melihat homogenitas dari data. Apabila diperoleh nilai $P > 0,05$ maka pengujian dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova* terhadap nilai kadar asam urat yang diperoleh dan dilanjutkan uji lanjut *Duncan* untuk menentukan perbedaan rata-rata di antara dan untuk melihat perbedaan antarperlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter Nonspesifik

Parameter nonspesifik yang dilakukan pada penelitian ini meliputi susut pengeringan dan kadar abu. Berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 1), susut pengeringan ekstrak etanol daun durian adalah 2,55%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air yang terkandung dalam ekstrak rendah sehingga memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia yaitu nilai susut pengeringan ekstrak tidak lebih dari 10%.¹⁴ Susut pengeringan kulit buah durian dilaporkan lebih besar, yaitu 4%.²⁵

Tabel 1. Parameter nonspesifik daun durian

Parameter	Hasil analisa (%)
Susut pengeringan	2,55
Kadar abu	3,83

Kadar abu total pada ekstrak etanol daun durian sebesar 3,83%. Hasil ini sesuai dengan standar Farmakope Herbal Indonesia, yaitu nilai kadar abu total tidak lebih dari 9,0% untuk rimpang bengle.¹⁴ Sedangkan pada penelitian sebelumnya nilai kadar abu total dari daun durian adalah 8,4%.²⁶

Parameter spesifik

Identitas dan organoleptis

Tujuan pemeriksaan identitas dan organoleptis ekstrak adalah untuk memberikan identitas objektif seperti nama, bentuk, warna, rasa dan bau.¹⁵ Hasil identitas dan organoleptis ekstrak daun durian dapat ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Identitas dan organoleptis ekstrak daun durian

Parameter	Hasil
Identitas ekstrak	
Nama ekstrak	<i>D zibethinus</i>
Nama latin tumbuhan	<i>extractum</i>
Nama Indonesia	<i>D zibethinus</i> Linn.
Bagian tumbuhan yang digunakan	Durian Daun
Organoleptis ekstrak	
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Hijau kecoklatan
Rasa	Pahit (sepet)
Bau	Khas ekstrak

Kandungan metabolit sekunder

Analisis senyawa metabolit sekunder yang dilakukan meliputi alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan fenolik. Berdasarkan hasil skrining fitokimia (Tabel 3) ekstrak daun durian mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, steroid, saponin, dan fenolik. Menurut penelitian sebelumnya di dalam ekstrak daun durian tidak mengandung senyawa alkaloid. Senyawa metabolit sekunder flavonoid dan fenolik yang terkandung di dalam daun durian dapat menghambat aktivitas dari xantin oksidase dan superoksidase sehingga dapat

mengurangi pembentukan asam urat di dalam darah yang akan memicu terjadinya hiperurisemia.^{27,28}

Tabel 3. Kandungan metabolit sekunder ekstrak daun durian dari hasil skrining fitokimia

Skrining fitokimia	Hasil
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Steroid	+
Saponin	+
Fenolik	+

Keterangan: (+)= ada kandungan , (-)= tidak ada kandungan

Uji efektivitas antihiperurisemia

Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun durian seperti flavonoid dan fenolik diduga mampu menurunkan kadar asam urat pada mencit putih jantan. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar asam urat awal sebelum induksi, setelah induksi, dan setelah pemberian perlakuan pada masing-masing kelompok hewan uji. Hasil yang diperoleh menunjukkan efektivitas penurunan kadar asam urat pada mencit yang hiperurisemia (Tabel 4).

Berdasarkan hasil analisis statistik normalitas kadar asam urat pada mencit menunjukkan bahwa data yang diperoleh adalah homogen (P>0,05). Selanjutnya dilakukan pengujian *One Way ANOVA* versi 21 yang menunjukkan bahwa kadar asam urat total pada hari ke-0 (H-0) tidak ada perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan (P>0,05).

Tabel 4. Rata-rata kadar asam urat total darah mencit

Perlakuan	Rata-rata kadar asam urat (mg/dL) ± SEM			Persentase penurunan kadar asam urat
	H-0	H-6	H-15	
K+	3,056 ^A ±0,0377	6,422 ^A ±0,1256	3,567 ^A ±0,0986	44,46
K-	3,122 ^A ±0,0324	6,289 ^A ±0,1467	7,100 ^C ±0,1374	-12,89
P1	3,022 ^A ±0,0278	6,289 ^A ±0,1317	3,856 ^A ±0,1119	38,68
P2	3,089 ^A ±0,0351	6,278 ^A ±0,1222	3,733 ^A ±0,0986	40,53
P3	3,022 ^A ±0,0364	6,256 ^A ±0,1144	4,522 ^B ±0,0909	27,71
P4	3,044 ^A ±0,0338	6,111 ^A ±0,1285	4,744 ^B ±0,1082	22,36

Keterangan: Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05). K- (CMC-Na 0,5%), K+ (allopurinol 10 mg/kgBB), P1 (ekstrak etanol daun durian dosis 50 mg/kgBB), P2 (ekstrak etanol daun durian dosis 100 mg/kgBB), P3 (ekstrak etanol daun durian dosis 200 mg/kgBB) dan P4 (ekstrak etanol daun durian dosis 250 mg/kgBB). SEM : *Standar Error Mean*.

Hal ini menunjukkan hewan uji yang digunakan dalam kondisi yang sama, yaitu memiliki kadar asam urat yang normal. Nilai kadar asam urat mencit sebelum diberikan perlakuan apapun pada hari ke-0 setelah mencit dipuaskan adalah antara 1,5-3,3 mg/dL.²⁹ Pengambilan darah awal (H-0) pada mencit jantan *Swiss Webster* sebelum diberikan perlakuan apapun pada penelitian ini memiliki kadar asam urat dengan nilai rata-rata 3,0 mg/dL. Hasil yang didapat pada pengukuran kadar asam urat awal (H-0) mencit. Tingginya kadar asam urat mencit dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu jenis mencit yang digunakan dan pakan standar yang dikonsumsi selama aklimatisasi. Pakan yang mengandung protein tinggi (minimum 15%) dapat meningkatkan kadar asam urat mencit. Komposisi pakan hewan uji yang digunakan sebagai antihiperurisemia lebih disarankan mengandung protein yang rendah yaitu maksimum 10% sesuai dengan standar pakan menurut *Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990*.³⁰

Pengambilan darah hari ke-6 (H-6) pada mencit menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($P > 0,05$). Hal ini disebabkan hewan uji yang digunakan dalam kondisi yang sama dan tidak mengalami stres selama penginduksian sehingga setiap kelompok hewan uji mengalami kondisi hiperurisemia. Kadar rata-rata asam urat mencit setelah penginduksian adalah 6,2 mg/dL, nilai ini menunjukkan mencit sudah mengalami hiperurisemia. Mencit dikatakan hiperurisemia jika kadar asam urat mencapai 6,2-7,1 mg/dL.³¹

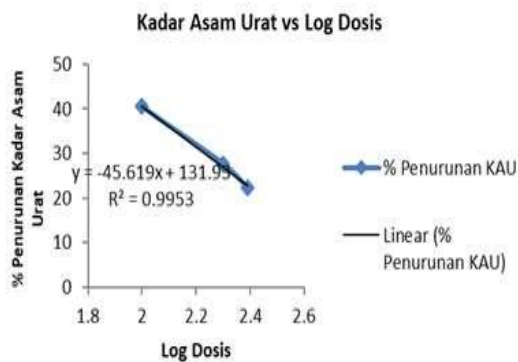
Pengambilan darah pada hari ke-15 (H-15) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun durian dan allopurinol berbeda signifikan ($P < 0,05$) terhadap kadar asam urat total mencit. Uji lanjut (*Post Hoc Duncan*) menunjukkan bahwa rata-rata kadar asam urat total darah mencit pada kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4, dan K+ nyata ($P < 0,05$) lebih rendah dari kelompok kontrol negatif (K-). Kelompok P1 dan P2

berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dibanding dengan kontrol positif (K+).

Persentase penurunan tertinggi terdapat pada kelompok P2 (100 mg/kgBB) dengan penurunan kadar asam urat mencit sebesar 40,53% yang hampir mendekati kelompok K+ (allopurinol 10 mg/kgBB) yaitu 44,46%. Allopurinol digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif untuk mengetahui seberapa besar kemampuan allopurinol dalam menghambat kerja enzim xantin oksidase dalam menurunkan kadar asam urat.²⁸ Kemudian penurunan kadar asam urat mencit pada ekstrak etanol daun durian diikuti pada kelompok P1 (50 mg/kgBB) sebesar 38,68%. Penurunan kadar asam urat mencit yang paling lemah terdapat pada kelompok P4 (250 mg/kgBB) dengan persentase penurunannya adalah 23,36% dan diikuti dengan kelompok P3 (200 mg/kgBB) sebesar 27,71%.

Peningkatan dosis obat seharusnya akan meningkatkan respon yang sebanding dengan dosis yang ditingkatkan. Namun dengan meningkatnya dosis, peningkatan respon pada akhirnya akan menurun karena sudah mencapai dosis yang optimum. Hal tersebut sering terjadi pada penggunaan obat bahan alam karena komponen senyawa tidak tunggal melainkan terdiri dari berbagai macam senyawa kimia yang saling bekerja sama untuk menimbulkan efek yang baik dalam menurunkan kadar asam urat. Namun dengan adanya peningkatan dosis, jumlah senyawa kimia yang dikandung semakin banyak sehingga terjadi interaksi yang merugikan yang dapat menurunkan efektivitas obat.^{4,11}

Nilai ED_{50} dihitung dengan menggunakan regresi linier antara log dosis dan persen penurunan kadar asam urat darah (Gambar 1). Berdasarkan kurva antara log dosis dan persen penurunan kadar asam urat, maka diperoleh persamaan linear yaitu $y = -45,61x + 131,93$ dengan nilai $R^2 = 0,995$.



Gambar 1. Kurva hubungan antara log dosis dan persentase penurunan kadar asam urat

Variasi dosis yang digunakan dalam menentukan nilai ED_{50} pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun durian 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 250 mg/kgBB. Nilai ED_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol daun durian tersebut sebesar 61,65 mg/kgBB. Artinya bahwa dengan pemberian ekstrak etanol daun durian pada dosis 61,65 mg/kgBB mampu menurunkan 50% kadar asam urat pada mencit yang hiperurisemia.

Senyawa metabolit sekunder yang sangat berperan dalam menurunkan kadar asam urat adalah senyawa flavonoid. Golongan senyawa aktif dari flavonoid dapat menghambat aktivitas dari xantin oksidase dan superoksidase sehingga dapat mengurangi pembentukan asam urat di dalam darah yang akan memicu terjadinya antihiperurisemia.²⁸ Hiperurisemia terjadi karena akumulasi asam urat dalam tubuh yang akan menyebabkan kadar purin dalam tubuh menjadi asam urat endogen oleh xantin oksidase.³²

Selain itu, senyawa fenolik juga berpotensi dalam menurunkan resiko gout yang terjadi akibat timbunan kristal monosodium urat (MSU) yang meningkat. Timbunan kristal tersebut akan menyebabkan peradangan atau inflamasi jaringan yang memicu timbulnya reumatik. Keadaan ini terjadi karena adanya peningkatan kadar asam urat di atas nilai normal (hiperurisemia). Jika tidak diobati akan menyebabkan kerusakan hebat pada sendi dan jaringan lunak.³³

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun durian berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar asam urat total pada mencit dengan nilai inhibisi ED_{50} terdapat pada dosis 61,65 mg/kgBB dan memiliki potensi sebagai obat antihiperurisemia.

SARAN

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui dan memperoleh isolat senyawa dari daun durian yang berpotensi sebagai antihiperurisemia serta penilaian keamanan ekstrak melalui uji toksisitas akut dan subkronis.

DAFTAR RUJUKAN

1. Sari RP, Ariani N, Febrianti DR. Uji aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol Semut Jepang (*Tenebrio molitor* L) pada tikus putih jantan galur Spague-Dawley. Cahaya N, Anwar K, editor. Pendidikan farmasi dan apoteker yang paripurna untuk mencapai kompetensi dalam menghadapi persaingan global. Prosiding Seminar Nasional Asosiasi Pendidikan Tinggi Farmasi Indonesia (APTFI) II; 2017 Nov 16-18; Banjarmasin, Indonesia. Banjarmasin: Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat; 2017. p. 107-12.
2. Wells BG, DiPiro JT, Schwinghammer TL, DiPiro CV, editors. Pharmacotherapy handbook. 9th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2015.
3. Pokharel K, Yadav BK, Jha B, Parajuli K, Pokharel RK. Estimation of serum acid in cases of hyperuricaemia and gout. Journal Nepal Medicinal Association. 2015;51(181):15-20.
4. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Ricky Soehars, editor. Farmakologi dasar dan klinik. Edisi 12 volume 1. Jakarta: EGC; 2012.
5. Kusuma AM, Wahyuningrum R, Widyati T. Aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol herba pegagan pada mencit jantan dengan induksi kafein. Pharmacy. 2014;11(01):62-74.
6. BPTP Balitbangtan Sulawesi Barat. Durian si raja buah kontroversial

- [Internet]. BPTP Balitbangtan Sulawesi Barat; 2020 [disitasi 2020 Feb 01]. Diunduh dari: <http://sulbar.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php/info-teknologi/360-durian-si-raja-buah-kontroversial>
7. Maradona D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol daun durian (*Durio zibenthinus*), daun lengkung (*Dimocarpus longan*), dan daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 [skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2013.
 8. Aruan DGR, Barus T, Haro G, Siburian R, Simanjuntak P. Phytochemical screening and antidiabetic of n-hexane, ethyl acetate, and water extract from durian leaves (*Durio zibenthinus* L.). *Oriental Journal of Chemistry*. 2019 Jan;35(1):487-90. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/350166>
 9. Basma AA, Zakaria Z, Latha LY, Sasidharan S. Antioxidant Activity and Phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*. 2011 May;4(5):386-90. doi: 10.1016/S1995-7645(11)60109-0
 10. Xu F, Zhao X, Yang L, Wang X, Zhao J. A new cycloartane-type triterpenoid saponin xanthine oxidase inhibitor from *Homonioia riparia* Lour. *Molecules*. 2014 Aug;19(9):13422-31. doi: 10.3390/molecules190913422
 11. Pertamawati, Hardhiyuna M. Uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase terhadap ekstrak kulit kayu secang (*Caesalpinia sapan* L.). *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2015 Des;3(2):12-7. doi: <http://dx.doi.org/10.26874/kjif.v3i2.99>
 12. Suryadinata RV. Pengaruh radikal bebas terhadap proses inflamasi pada penyakit paru obstruktif kronis (PPOK). *Amerta Nutrition*. 2018 Des;317-24. doi: 10.2473/amnt.v2i4.2018.317-324
 13. Muhtadi, NM Sari, Haryoto, Sujono TA, Suhendi A. Aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibenthinus*) dan biji buah kelengkeng (*Euphorbia longan*). *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami [SPBOA] XVI & MUKTAMAR XII PERHIPBA*. 2014 April;440-7. Solo, Indonesia. Yogyakarta: Leutikaprio.
 14. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
 15. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
 16. Teanpaisan R, Kawsud P, Pahumunto N, Puripattanavong J. Screening for antibacterial and antibiofilm activity in Thai medicinal plant extract against oral microorganisms. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017 Apr;7(2):172-7.
 17. Latifah. Identifikasi golongan senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galangal* L.) dengan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*) [skripsi]. Malang; 2015.
 18. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *International Pharmaceutica Scientia*. 2011;1(1):98-106.
 19. Masruroh IK. Uji aktivitas antihiperurisemia ekstrak metanol biji juwet (*Syzygium cumini* (L) Skeels.) pada mencit jantan galur Balb-C hiperurisemia [skripsi]. Jember: Universitas Jember; 2016.
 20. Cendrianti F, Muslichah S, Ulfa EU. Uji aktivitas antihiperurisemia ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) pada mencit jantan hiperurisemia. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2014 Mei;2(2):205-10.
 21. Jiang Y, Lin Y, Hu YJ, Song XJ, Pan HH, Zhang HJ. Caffeoylquinic acid derivatives rich extract from *Gnaphalium Pennsylvanicum* Wild. Ameliorates hyperuricemia and acute gouty arthritis in animal model. *BMC Complementary and alternative medicine*. 2017 Jun;17(1):320. doi: 10.1186/s12906-017-1834-9
 22. Suhendi A, Nurcahyanti, Muhtadi, Sutrisna EM. Aktivitas antihiperurisemia ekstrak air jinten hitam (*Coleus ambonicus* Lour.) pada mencit jantan galur Balb-C dan standarisasinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2011;22(2):77-84.
 23. Ardiyanti R. Efek Antihiperurisemia Ekstrak etanol herba pugun tanah (*Picria fel-terrae* Lour.) terhadap tikus jantan

- [skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2018.
24. Amir M, Purukan JIA. Uji efektivitas ekstrak etanol buah naga putih (*Hylocereus undatus*) terhadap penurunan kadar asam urat darah pada mencit (*Mus musculus*). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2018;16(2):166-71.
 25. Saputra RA, Mulkiya K, Dasuki UA. Pengaruh metode ekstraksi refluks dan ekstraksi sinambung terhadap aktivitas antioksidan dan penetapan total fenol dan flavonoid dari kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murray). Prosiding Farmasi. 2017;3(1):85-92.
 26. Insanu M, Ruslan K, Fidrianny I, Wijaya S. Isolasi flavonoid dari daun durian (*Durio zibethinus* Murr. Bombacaceae). Acta Pharmaceutica Indonesia. 2011; 36(1&2):6-10.
 27. Ang AMG, Nalda CMDR, Sabejon SE. Brine shrimp lethality and antioxidant activity of the leaf, rind and seed ethanolic extracts of *Durio zibethinus* L. Asian Journal of Biological and Life Sciences. 2018;7(3):105-11.
 28. Wadjie F, Kartika R, Saleh C. Uji Aktivitas antihiperurisemia dari ekstrak etanol daun kluwih (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*). Jurnal Atomik. 2018;3(2):111-5.
 29. Hidayah N, Hasanah F, Gunawan M, Lestari A. Uji efektivitas antihiperurisemia ekstrak air daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*) yang di induksi jus hati ayam dan kalium oksonat. Jurnal Penelitian Sainika. 2018;18(1):24-31.
 30. Rizki, KP, Muslichah S, Ningsih IY. Pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) dan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc.) pada mencit jantan hiperurisemia. e-jurnal Pustaka Kesehatan. 2018;6(2):205-11.
 31. Juwita R, Saleh C, Sitorus S. Uji aktivitas antihiperurisemia dari daun hijau tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*). Jurnal Atomik. 2017;2(1):162-8.
 32. Saigal R, Agrawal A. Pathogenesis and clinical management of gouty arthritis. Journal of the Association of Physicians of India. 2016;63(12):56-63.
 33. Ningtiyas IF, Ramadhian MR. Efektivitas ekstrak etanol daun salam untuk menurunkan kadar asam urat pada penderita arthritis gout. Majority. 2016;5(3):105-10.

Ekstrak Etanol Kopi Hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) sebagai Antihiperqlikemi pada Mencit (*Mus musculus*)

Ethanol Extract of Arabica (*Coffea arabica* L.) Green Coffee as Antihyperglycemy in Mice (*Mus musculus*)

Irawati Hamdani^{1*}, Salfauqi Nurman^{1,2}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ubudiyah Indonesia, Banda Aceh, Indonesia

²Program Studi Teknis Industri Pertanian, Universitas Serambi Mekkah, Banda Aceh, Indonesia

*E-mail: irawatihamdani@gmail.com

Diterima: 16 Agustus 2019

Direvisi: 3 Maret 2020

Disetujui: 6 Maret 2020

Abstrak

Diabetes melitus merupakan penyakit dengan kadar glukosa darah yang melebihi batas normal. Senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa darah adalah asam klorogenat yang terdapat pada kopi hijau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan monohidrat. Metode penelitian yang digunakan adalah *True Experimental Laboratories* dengan analisis kadar asam klorogenat menggunakan Spektrofotometer UV-Vis serta rancangan penelitian *Post test Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan, terdiri dari kontrol negatif (aquadest), dosis I (100 mg/kg BB), dosis II (200 mg/kg BB), dosis III (300 mg/kg BB), dosis IV (400 mg/kg BB), dan kontrol positif (metformin). Kadar glukosa darah mencit diukur pada hari ke-0, ke-7, dan ke-21. Data dianalisis menggunakan program SPSS dengan uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov*), uji homogenitas (*Levene Test*), dan uji statistik parametrik (*One-Way ANOVA*). Hasil penelitian menghasilkan data terdistribusi normal dan homogen ($P > 0,05$) dengan beberapa pasang data yang berbeda bermakna ($P > 0,05$) pada kelompok perlakuan. Kadar asam klorogenat dalam ekstrak kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) adalah 4,235%, dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit sebesar 10,72% (dosis I); 19,85% (dosis II); 27,20% (dosis III); dan 31,60% (dosis IV) dengan dosis IV sebagai dosis efektif.

Kata Kunci: Kopi Arabika; Klorogenat; Glukosa darah; Antihiperqlikemi

Abstract

Diabetes mellitus is an excessive level of blood sugar concentration disease. One of the compounds that can moderate the blood sugar level is chlorogenic acid that mostly found in green coffee. This study aims to determine the extract activity of Arabica (Coffea arabica L.) green coffee in decreasing the blood sugar level of mice (Mus musculus) that induced by alloxan monohydrate. The method is True Experimental Laboratories with the analysis of chlorogenic acid levels using a UV-Vis spectrophotometer. The research design is Post Test Control Group Design, using 24 mice that divided into six treatment groups. The groups consist of negative control (distilled water), Dose I (100 mg/kg bw), Dose II (200 mg/kg bw), Dose III (300 mg/kg bw), Dose IV (400 mg/kg bw), and positive control (metformin). Blood sugar levels of the mice is measured at the intervals of 1st day, 7th day, 21st day. The data is analyzed using the SPSS program with normality tests (Kolmogorov-Smirnov), homogeneity tests (Levene Test), and parametric statistical tests (One-Way ANOVA). The data results was normally distributed and homogeneous ($P > 0.05$) with several pairs of data in the treatment group were significantly different ($P > 0.05$). The extract of Arabica (Coffea arabica L.) green coffee contained 4.235% chlorogenic acid, could reduced the hyperglycemia mice blood sugar levels by the dose of 10.72% (Dose I); 19.85% (Dose II); 27.20% (Dose III); and 31.60% (Dose IV) with dose IV as the effective dose.

Keywords: Arabica Coffee; Chlorogenic; Blood Sugar; Antihyperglycemy

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi batas normal akibat kelainan atau kekurangan hormon insulin secara relatif maupun absolut.¹ *Global status report on NCD World Health Organization* (WHO) tahun 2010 melaporkan, diabetes mellitus menduduki peringkat ke-6 penyebab kematian di dunia. Sekitar 1,3 juta orang meninggal akibat diabetes dan 4% di antaranya meninggal sebelum usia 70 tahun.^{2,3}

Diabetes mellitus tidak dapat disembuhkan tetapi dapat dikontrol dengan melakukan upaya-upaya seperti perencanaan diet, mempertahankan berat badan tubuh normal, melakukan olahraga yang cukup, dan terapi dengan obat antidiabetes. Obat antidiabetes tidak memberikan kesembuhan total dan dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi penderita.⁴

Salah satu alternatif terapi diabetes mellitus tanpa obat kimia adalah dengan menggunakan tanaman mengandung zat antioksidan yang bekerja menghambat oksidasi dan mampu melindungi sel β pankreas dari reaksi pengoksidasi berantai yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah polifenol. Senyawa polifenol memiliki kemampuan mengikat protein sehingga dapat menghambat enzim pengurai karbohidrat seperti α -glukosidase yang berkontribusi terhadap hiperglikemia *post prandial*.⁴

Kopi merupakan sumber utama antioksidan dalam diet masyarakat di Amerika Serikat yang diikuti oleh teh, pisang, dan kacang-kacangan. Senyawa utama polifenol pada kopi adalah asam klorogenat dan kafeat. Jumlah asam klorogenat mencapai 90% dari total fenol yang terdapat pada kopi.⁵

Asam klorogenat merupakan ester yang dibentuk dari asam trans-sinamat (misalnya kafeat, ferulat dan p-kumarat) dan asam kumarat yang mempunyai gugus hidroksil pada posisi aksial pada karbon 1 dan 3 serta hidroksil equatorial pada karbon 4 dan 5.⁶ Asam klorogenat mempunyai aktivitas sebagai analgesik, antipiretik, antiradang, antijamur, antibakteri, antimutagenik, antitumor, antivirus, antidiabetes, dan antihipertensi.⁷ Dalam beberapa penelitian yang dilakukan pada hewan, asam klorogenat juga menunjukkan aktivitas dalam metabolisme glukosa dan lipid seperti sebagai hipoglikemi, antidiabetes, peningkat sekresi insulin serta mengurangi kerentanan terhadap oksidasi LDL.⁸

Jumlah asam klorogenat pada kopi dapat dipengaruhi oleh proses pengolahannya, yaitu pada saat proses penyangraian. Selama proses penyangraian, asam klorogenat akan terdekomposisi menjadi senyawa volatil dan melanoidin yang menyebabkan jumlah dari asam klorogenat tersebut menjadi menurun. Kopi hijau merupakan salah satu olahan kopi tanpa melalui proses penyangraian, sehingga asam klorogenat yang terkandung di dalam kopi hijau lebih tinggi di bandingkan kopi hitam atau kopi yang telah disangrai.

Berdasarkan uraian diatas diduga kopi hijau dapat menurunkan kadar glukosa darah yang menjadi dasar penelitian ini. Penelitian yang akan dilakukan yaitu menguji aktivitas antihiperglikemi dari ekstrak etanol kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan monohidrat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan dan dosis efektif ekstrak etanol kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*).

METODE

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala dan Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin dengan No: 22/EA/FK-RSUDZA/2019 dan No Registrasi KEPPKN: 1171012P pada tanggal 15 Februari 2019.

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Analisis Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala serta Laboratorium Farmakologi Institut Atjeh, selama tiga bulan dari 10 Desember 2018 sampai dengan 09 Maret 2019.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah kandang hewan uji, timbangan hewan (Electronic Kitchen Scale GSE SF-400), neraca digital (Chyo JL-180), gelas kimia (Pyrex), batang pengaduk, corong Büchner, kertas saring, pipet tetes, spuit, wadah bertutup, kapas, rotary evaporator (Heidolph WB 2000), glukometer (Easy Touch GCU), strip (Easy Touch GCU), pemanas spiritus, kaki tiga, kawat kasa, oven (Eyela WFO 450PD), cawan, desikator, tanur (Carbolite AAF 1100), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1201), magnetic stirrer, mortar.

Bahan yang digunakan adalah biji kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) yang diperoleh dari perkebunan Sukarami Kecamatan Wih Pesam Kabupaten Bener Meriah, etanol (Merck, 96%), aloksan monohidrat (Sigma Aldrich, 98%), metformin (Hexapharm Jaya, 500 mg), hewan uji (mencit jantan strain Balb/c) yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, air suling, makanan standar untuk mencit, alkohol (One Med, 70%), NaCl fisiologis (Otsu-NS 0,9%), asam klorogenat standar (Sigma

Aldrich, 95%), dan diklorometana (Merck, 99,8%).

Prosedur kerja

Preparasi sampel

Buah kopi yang telah dipetik diseleksi untuk pemisahan buah kopi yang berpenyakit dan cacat. Buah kopi kemudian dikupas kulitnya dan dikeringkan dengan penjemuran dibawah sinar matahari hingga kering dengan kadar air 12%. Biji kopi kering selanjutnya disortasi, dibuang kulit tanduknya, dan dikeringkan kembali dalam oven. Biji kopi yang telah kering kemudian digiling dengan blender sehingga menghasilkan serbuk kasar kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) dengan ukuran 60 mesh.

Serbuk kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) sebanyak 306g diekstraksi menggunakan metode maserasi. Serbuk kopi hijau arabika dimaserasi menggunakan 3L pelarut etanol 96% dengan bantuan shaker selama 9 jam. Kemudian didiamkan selama 15 jam. Filtrat pertama disaring kemudian dilakukan maserasi kembali sebanyak 2 kali dengan penambahan 1,5 L pelarut etanol 96%. Ekstrak cair etanol diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55°C hingga menghasilkan ekstrak yang kental.

Analisis kadar asam klorogenat

Larutan standar asam klorogenat dibuat dengan melarutkan 5 mg asam klorogenat kering ke dalam labu takar 100 mL. Kemudian ditambahkan air suling sampai garis tera (larutan induk 50 ppm). Larutan standar (0,02-0,1 ppm) dibuat dengan mengencerkan larutan induk dengan air suling. Larutan standar diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan air suling sebagai blanko.

Pada tahap persiapan sampel, ekstrak kopi hijau sebanyak 60 mg dilarutkan dalam

25 mL air suling. Larutan tersebut diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam disertai pemanasan. Setelah itu, larutan disaring untuk memisahkan padatan.

Dilakukan ekstraksi cair-cair menggunakan diklorometan pada larutan sampel sebanyak 4 kali untuk memisahkan kafein dengan asam klorogenat. Hal ini dilakukan supaya tidak terjadi bias panjang gelombang saat pengukuran asam klorogenat. Larutan hasil sampel dicampur dengan diklorometana (25:25 mL) kemudian diaduk selama 10 menit.

Fase air dan fase diklorometana dipisahkan dengan corong pemisah. Air yang mengandung asam klorogenat ditampung dalam labu takar, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dengan air suling sebagai blanko.⁹

Uji aktivitas antihiperqlikemi

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan strain Balb/c yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 25-30 gram. Penentuan jumlah mencit ditentukan dengan rumus Freederer yaitu: $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok.¹⁰

Penelitian memerlukan 6 kelompok percobaan yang masing-masing terdiri dari 4 ekor mencit, sehingga penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit.

Pada tahap awal penelitian, mencit diaklimatisasi selama 1 minggu, diberi makan dan minum *ad libitum*. Selanjutnya, mencit dipuaskan selama 8-12 jam namun tetap diberikan air minum. Setelah itu, diuji kadar glukosa darahnya.

Mencit yang telah diuji kadar glukosa darah puasa, kemudian diinjeksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kg BB. Setelah 7 hari, diuji kadar

glukosa darah untuk mengetahui efek dari penginduksian aloksan.¹¹

Selanjutnya mencit dibagi menjadi 6 kelompok dan diberi perlakuan selama 14 hari. Kelompok dan perlakuannya yaitu: kelompok kontrol negatif diberikan aquadest, kelompok dosis I diberikan ekstrak kopi hijau Arabika sebanyak 100 mg/kg BB, kelompok dosis II diberikan ekstrak kopi hijau Arabika sebanyak 200 mg/kg BB, kelompok dosis III diberikan ekstrak kopi hijau Arabika sebanyak 300 mg/kg BB, kelompok dosis IV diberikan ekstrak kopi hijau Arabika sebanyak 400 mg/kg BB, dan kelompok kontrol positif diberikan metformin dengan dosis 65 mg/Kg BB.

Pengukuran glukosa darah mencit dilakukan pada interval hari ke-0, 7, dan 21. Pengukuran glukosa dilakukan dengan cara: ekor mencit dibersihkan dengan alkohol 70%, ujungnya digunting atau disayat dengan menggunakan pisau bedah kecil hingga membentuk sayatan yang dalam. Sampel darah (setetes) yang berasal dari ujung ekor diteteskan ke strip glukosa yang telah dimasukkan dalam glukometer.¹²

Persentase penurunan kadar glukosa darah dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{\text{KGD awal} - \text{KGD akhir}}{\text{KGD awal}} \times 100$$

Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis dengan program SPSS yang diawali dengan melakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Apabila kedua uji menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilakukan uji statistik parametrik dengan One-Way ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok, dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* untuk mengetahui besarnya perbedaan antar kelompok. Jika datanya tidak terdistribusi normal dan/atau

tidak homogen maka dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji statistik *Mann-Whitey* ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi sampel

Buah kopi merah sebanyak 1 kg menghasilkan biji kopi berkulit tanduk dengan rendemen sebesar 65,7%, biji kopi hijau sebanyak 64,38%, dan serbuk kopi hijau sebanyak 72,34% (Tabel 1). Proses ekstraksi serbuk kopi hijau menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 8,8%. Ekstrak yang dihasilkan merupakan ekstrak kental, lengket, berwarna coklat, berbau aromatik, dan memiliki rasa pahit.

Tabel 1. Rendemen tahapan preparasi sampel

No	Sampel	Berat (g)	Hasil	Berat (g)	Rendemen (%)
1	Buah kopi merah	1000	Biji kopi berkulit tanduk	657	65,7
2	Biji kopi berkulit tanduk	657	Biji kopi hijau	423	64,38
3	Biji kopi hijau	423	Simplisia kopi hijau	306	72,34
4	Simplisia kopi hijau	306	Ekstrak kopi hijau	27	8,82

Analisis kadar asam klorogenat

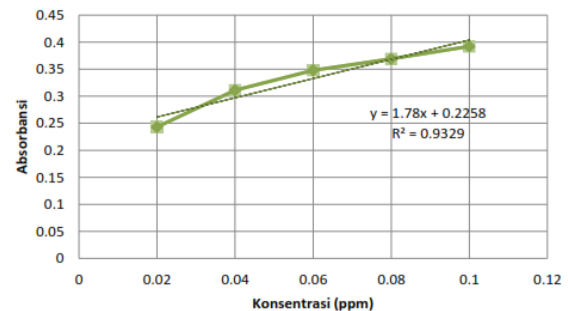
Asam klorogenat merupakan senyawa dari asam kafeat dan asam kuintat yang berpotensi sebagai antioksidan. Asam klorogenat diidentifikasi menggunakan spektrofotometer.⁹

Kadar asam klorogenat yang terkandung di dalam ekstrak kopi hijau Arabika (*Coffea arabica L.*) dianalisis menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 325 nm. Analisis konsentrasi sampel dilakukan tiga kali pengulangan, dengan rata-rata absorbansi sebesar 0,347 (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil analisis konsentrasi sampel

Panjang gelombang	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
325 nm	0,348	0,347	0,346	0,347

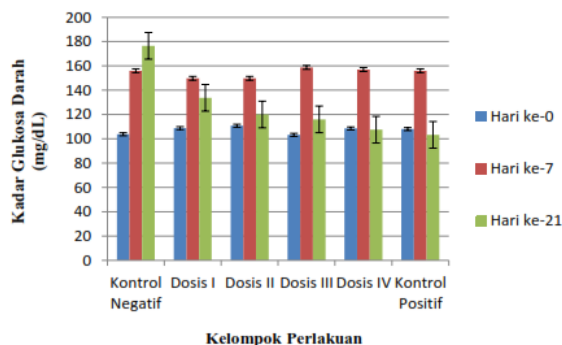
Nilai absorbansi yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus regresi $y = 1,78x + 0,2258$ (persamaan diperoleh dari hasil kurva kalibrasi pada Gambar 1) dan menghasilkan nilai konsentrasi asam klorogenat sebesar 0,0681 ppm setara dengan sebesar 4,235%. Kadar asam klorogenat yang diperoleh sesuai literatur yang menyatakan kadar asam klorogenat pada kopi hijau Arabika (*Coffea arabica L.*) adalah sebesar 4,1-7,9%.⁶



Gambar 1. Pembuatan kurva kalibrasi

Uji aktivitas antihiperqlikemi

Berdasarkan hasil pengamatan, mencit kelompok kontrol negatif mengalami kenaikan kadar glukosa darah sampai hari ke-21 setelah induksi aloksan mohohidrat. Mencit dengan pemberian ekstrak kopi hijau Arabika (*Coffea arabica L.*) pada kelompok dosis I, dosis II, dosis III, dan dosis IV, menunjukkan penurunan kadar glukosa darah sebesar $10,72\% \pm 3,93$; $19,85\% \pm 5,34$; $27,20\% \pm 6,31$; dan $31,60\% \pm 3,87$.



Gambar 2. Kadar glukosa darah mencit sebelum dan setelah perlakuan

Perlakuan dengan pemberian metformin pada kelompok kontrol positif menunjukkan penurunan kadar glukosa darah mencit secara signifikan sebesar $34,31\% \pm 6,91$. Hal ini disebabkan karena metformin merupakan salah satu obat oral antidiabetes golongan biguanid yang bekerja dengan cara meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin yang diproduksi oleh pankreas dan menurunkan produksi glukosa hepatic melalui aktivasi enzim *AMP-activated protein kinase* serta meningkatkan stimulasi ambilan glukosa oleh otot skelet dan jaringan lemak.^{13,14} Kadar glukosa darah mencit sebelum dan setelah perlakuan ditunjukkan pada Gambar 2.

Senyawa yang terkandung didalam kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) yang sangat berperan dalam penurunan kadar glukosa darah mencit hiperglikemi adalah asam klorogenat.^{4,15} Mekanisme asam klorogenat dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu menghambat sintesis asam lemak baik secara *in vitro* ataupun *in vivo*, menghambat ekspresi G6 Pase hati dan aktivitas *steatosis* hati, serta menstimulasi *uptake* glukosa pada otot skeletal dengan melalui aktivasi AMPK¹⁶ seperti mekanisme kerja metformin. Sehingga pemberian ekstrak kopi hijau Arabika dan pemberian metformin memiliki kemiripan dalam tingkat penurunan kadar glukosa darah.

Tabel 3. Data hasil pengukuran kadar glukosa darah mencit setelah induksi aloksan, ekstrak kopi hijau arabika (*coffea arabica* L.) dan metformin

Kelompok perlakuan	Kadar glukosa darah (mg/dL)	
	Setelah induksi aloksan	Setelah induksi ekstrak kopi hijau arabika (<i>coffea arabica</i> L.) dan metformin
Kontrol negatif (aquadest)	156 ± 12,73	176,5 ± 9,75
Ekstrak kopi hijau dosis I (100 mg/kg bb)	149,75 ± 5,44	133,75 ± 8,62
Ekstrak kopi hijau dosis II (200 mg/kg bb)	149,75 ± 4,57	120 ± 7,18
Ekstrak kopi hijau dosis III (300 mg/kg bb)	158,75 ± 9,43	116 ± 16,39
Ekstrak kopi hijau dosis IV (400 mg/kg bb)	157 ± 15,19	107,5 ± 13,70
Kontrol positif (metformin)	156 ± 16,27	103,25 ± 22,02

Penelitian ini hanya menggunakan ekstrak kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB. Dosis 400 mg/kg BB dikatakan efektif karena di antara ke empat dosis tersebut, dosis 400 mg/kg BB yang paling besar menurunkan kadar glukosa darah mencit, bahkan hampir menyamai penurunan glukosa darah yang dihasilkan oleh metformin (Tabel 3).

Analisis data

Uji normalitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,416 dan uji homogenitas menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,156 (Tabel 4). Kedua uji tersebut menghasilkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data pada penelitian ini terdistribusi normal dan homogen/sama. Sedangkan uji statistik parametrik One-Way ANOVA menghasilkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 yaitu 0,000 yang berarti bahwa minimal terdapat satu pasang data pada kelompok perlakuan yang berbeda bermakna.

Tabel 4. Hasil analisis data

Uji	Hasil	Standar signifikansi
Normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	0,416	>0,05
Homogenitas (Levene Test)	0,156	>0,05
Statistik parametrik (One-Way ANOVA)	0,000*	<0,05
Tukey HSD	0,000*	<0,05

* Terdapat perbedaan bermakna

Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang berbeda dan besarnya perbedaan antar kelompok tersebut, dilakukan uji *Tukey* HSD. Secara umum, hasil analisa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ekstrak kopi hijau arabika dosis I, dosis II, dosis III, dosis IV, dan kontrol positif ($p < 0,05$).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kopi hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) dosis I (100 mg/kg BB), dosis II (200 mg/kg BB), dosis III (300 mg/kg BB), dan dosis VI (400 mg/kg BB) dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit yang telah mengalami hiperglikemi dengan dosis IV sebagai dosis efektif.

DAFTAR RUJUKAN

- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Diabetes Care. United States of America; 2010.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Diabetes Melitus Penyebab Kematian Nomor 6 di Dunia [Internet]. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2013. [disitasi 2018 Nov 16]. Diperoleh dari: <http://www.depkes.go.id/pdf.php?id=2383>.
- Artanti P, Masdar H, Rosdiana D. Angka kejadian diabetes melitus tidak terdiagnosis pada masyarakat kota Pekanbaru. Jurnal

- Online Mahasiswa Fakultas Kedokteran. 2015;2(2):1-6.
- Wibowo AT. Uji Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol biji kola (*cola acuminata*) terhadap kadar glukosa darah tikus yang diinduksi Aloksan [skripsi]. Purwokerto: Universitas Muhammadiyah; 2017.
- Yusmarini. Mini review senyawa polifenol pada kopi: pengaruh pengolahan, metabolisme dan hubungannya dengan kesehatan. SAGU. 2011;10(2):22-30.
- Farah A. Coffee constituents in coffee: emerging health effects and Disease revention. 1st ed. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd; 2012.
- Farhaty N dan Muchtaridi. Tinjauan kimia dan aspek farmakologi senyawa asam klorogenat pada biji kopi. Farmaka. 2016;14(1):214-27.
- Meng S, Cao J, Feng Q, Peng J. & Hu, Y. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013 Aug;(2013:801457):1-11.
- Handoyo, Febri. Ekstraksi dan karakterisasi green coffee extract (GCE) dari kopi robusta lampung [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian; 2017.
- Suhaerah, Lilis. Statistika dasar. Bandung: FKIP UNPAS; 2016.
- Rohilla A and Ali S. Alloxan induced diabetes: mechanism and effect. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Science. 2012 Jan;3(2):819-23.
- Arifin H, Merry AC, dan Ahmad A. Pengaruh air perasan bengkuang (*pachyrhizus erosus* L.) terhadap kadar gula darah mencit jantan diabetes. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. 2011;16(22):128-37.
- Katzung BG. Farmakologi dasar dan klinik. Edisi 10. Jakarta: EGC; 2011.
- Kroon LA dan Williams C. Diabetes mellitus. In: Koda-Kimble and Young's Applied Therapeutics; the Clinical Use of Drugs. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wolters Kluwer; 2013.
- Sukohar A, Setiawan, Wirakusumah FF, Sastramihardja HS. Isolasi dan karakterisasi

- senyawa sitotoksik kafein dan asam klorogenat dari biji kopi robusta Lampung. *Jurnal Medika Planta*. 2011 Okt;1(4):11-26.
16. Ong KW, Hsu A, Tan BKH. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by AMPK activation. *Biochemical Pharmacology*. 2013 Feb;85(9):1341-51.

UCAPAN TERIMA KASIH
KEPADA MITRA BEBESTARI JURNAL KEFARMASIAN INDONESIA
VOLUME 10, TAHUN 2020

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

INDEKS PENULIS
JURNAL KEFARMASIAN INDONESIA
VOLUME 10, TAHUN 2020

Adi Wibowo, 87	Lucky Rachmawan, 95
Afifah Bambang Sutjiatmo, 95	Lukman Prayitno, 67
Almira Amini, 50	Max Joseph Herman, 67
Andi Leny Susyanty, 42	Mery Budiarti, 19
Anggita Mirzautika, 59	Multi Tri Wardani, 102
Anshary Maruzy, 19	Nisa Isneni Hanifa, 110
Bambang Hernawan Nugroho, 102	Nita Prihartini, 42
Candra Dwipayana Hamdin, 50	Nunung Yulia, 87
Djoko Agus Purwanto, 50	Ofa Suzanti Betha, 1
Dyah Subositi, 19	Raharni, 42
Elivas Simatupang, 95	Rela Sonia, 130
Etik Mardliyati, 120	Retnosari Andrajati, 11
Eva Dania Kosasih, 87	Ririn Puspadewi, 95
Fahmi Ahsanul Haq, 95	Salfauqi Nurman, 140
Faizal Hermanto, 95	Sri Ningsih, 120
Fakhrun Nisa, 1	Suci Nar Vikasari, 95
Febia Arien Lestari, 110	Sudibyo Supardi, 11
Fitrianingsih, 130	Suparmi, 102
Fransiska Christydira Sekaringtyas, 120	Swasmi Purwajanti, 120
Handa Muliasari, 50	Titta Hart yana Sutarna, 95
Irawati Hamdani, 140	Wahida Hajrin, 110
Isnaeni, 59	Wahyu Hidayati, 79
Kurniatul Hasanah, 11	Wahyu Ismalasari, 79
Kusmardi Kusmardi, 79	Windah Anugrah Subaidah, 50
Landyyun Rahmawan Sjahid, 79	Yuni Anggraeni, 1
Lestari Handayani, 31	Yusnelti, 130
Lucie Widowati, 31	Yuyun Yuniar, 42

INDEKS SUBJEK
JURNAL KEFARMASIAN INDONESIA
VOLUME 10, TAHUN 2020

- | | |
|--|--|
| (-)-Epigallocatechin-gallate, 59 | Glukosa darah, 140 |
| Adulteran, 19 | In vivo, 95, 130 |
| Aerasi, 102 | Iritasi, 95 |
| Alginat, 102 | Kanker serviks, 79 |
| Antibakteri, 1 | Kepuasan pasien, 42 |
| Antihiperqlikemi, 140 | Klorogenat, 140 |
| Antihiperurisemia, 130 | Kopi Arabika, 140 |
| Anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 59 | Krim tabir surya, 50 |
| Autentikasi, 19 | Kurkumin, 120 |
| Cetak biru MEA, 67 | <i>Lactobacillus acidophilus</i> , 87 |
| Daun katuk, 110 | Liposom, 120 |
| Deksametason natrium fosfat, 102 | Masyarakat Ekonomi ASEAN, 67 |
| Design Expert, 110 | Metode pengaturan pH, 120 |
| Design, 110 | Minuman probiotik, 87 |
| Efek sinergis, 59 | Minyak nila, 1 |
| Ekstrak biji Wali, 50 | Obat antituberkulosis lini pertama, 59 |
| Ekstrak etanol daun durian, 130 | p53, 79 |
| Ekstrak etanol, 79 | Pasien rawat inap, 11 |
| Eritema, 50 | Pasien rawat jalan, 42 |
| Formulasi, 50 | Pegagan, 19 |
| Formulir rekonsiliasi, 11 | Pelayanan kefarmasian, 42 |
| Gelasi ionik, 102 | Penggunaan obat rasional, 11 |

Penyehat tradisional, 31
Perdagangan bebas barang, 67
Phospholipon 90 H, 120
Produk farmasi dan alat kesehatan, 67
Puskesmas, 42
Riset Tumbuhan Obat dan Jamu, 31
Rumah sakit, 42
Sabun cair, 1
Sabun mandi, 95
Seledri, 31
Simplex lattice, 110
Soya lecithin, 120
Staphylococcus aureus, 1
Streptococcus thermophilus, 87
Susu, 95
Syzigium polyanum, 79
Ubi kayu, 87
Uji efektivitas, 50
Ultrasonikasi, 102



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/konfransi; tanggal pelaksanaan; lokasi/kota tempat seminar/konfransi 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