



FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER



IKATAN APOTEKER INDONESIA
CABANG JEMBER

CURRENT CHALLENGES IN DRUG USE AND DEVELOPMENT

Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis

PROSIDING



SEMINAR NASIONAL
FARMASI
JEMBER

28 NOV 2015
Ballroom Hotel Aston
Jl. Sentot Prawirodirdjo No. 88
Jember, Jawa Timur



*Membangun Generasi
Menuju Insan Berprestasi*

**SEMINAR NASIONAL CURRENT CHALLENGES
IN DRUG USE AND DEVELOPMENT
TANTANGAN TERKINI PERKEMBANGAN
OBAT DAN APLIKASI KLINIS**

PROSIDING

ISBN: 978-602-9030-89-1

© 2015

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS JEMBER

Diterbitkan oleh:
Fakultas Farmasi Universitas Jember
bekerja sama dengan
UPT Penerbitan Universitas Jember

Jl. Kalimantan No. 37
Jember 68121
Telp./Fax. : (0331) 324736
Email : farmasi@unej.ac.id
Website : farmasi.unej.ac.id

SEMINAR NASIONAL CURRENT CHALLENGES IN DRUG USE AND DEVELOPMENT TANTANGAN TERKINI PERKEMBANGAN OBAT DAN APLIKASI KLINIS

PROSIDING

28 NOPEMBER 2015
HOTEL ASTON, JEMBER, JAWA TIMUR

Editor:

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Lusia Oktora Ruma Kumala Sari, S.F., M.Sc., Apt.

Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc., M.Sc (Res)., Ph.D., Apt

Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt.

Dian Agung Pangaribowo, S.Farm., M.Sc., Apt.

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS JEMBER
DAN
IKATAN APOTEKER INDONESIA CABANG JEMBER
JEMBER, JAWA TIMUR

SAMBUTAN DEKAN FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS JEMBER

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Syukur Alhamdulillah kita panjatkan ke hadirat Allah SWT., yang mana atas rahmat dan inayahnya kita dapat menyelenggarakan Seminar Nasional yang bertemakan Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis.

Seperti kita ketahui bahwa perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang biologi sel, biologi molekuler, kimia kombinatorial, genomik dan proteomik yang sangat pesat namun pengembangan senyawa-senyawa ini sebagai obat seringkali terbentur pada kesulitan transpor atau penghantaran molekul-molekul senyawa tersebut ke situs sasarannya. Penemuan dan pengembangan obat baru tidak akan pernah menghasilkan produk final yang bermutu tanpa studi tentang penghantaran obat. Hal ini menjadi tantangan yang serius bagi industri farmasi dalam proses penemuan obat baru. Selain itu pengembangan bahan baku obat juga bermacam-macam, mulai dari yang berasal dari sediaan obat sintetik yang sudah ada atau menggunakan tanaman. Indonesia memiliki kekayaan hayati (*biodiversity*) terbesar kedua di dunia setelah Brasil. Luas wilayah negara Indonesia hanya 3% dari luas daratan di muka bumi, akan tetapi sebagian besar keanekaragaman hayati di dunia terdapat di Indonesia, yaitu 10% tumbuhan berbunga dunia, 12% jumlah spesies hewan di dunia, 16% jumlah reptil dan amfibi di dunia, 17% jumlah spesies burung di dunia, 25% spesies ikan di dunia. Berdasarkan hal tersebut sudah sewajarnya kalau Indonesia mengembangkan penelitian pada sektor yang berbasis keanekaragaman hayati. Latar belakang tersebut yang mendasari kami dalam melaksanakan seminar ini yang bertujuan untuk mengembangkan senyawa obat baik sintetis maupun bahan alam untuk meningkatkan aksi obat di tempat kerja dengan efek samping seminimal mungkin serta bagaimana aplikasi di klinik ke depannya.

Kami berharap dengan diselenggarakan seminar ini dapat meningkatkan pengetahuan dan kompetensi para peserta seminar tentang Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis. Semoga seminar nasional ini dapat berjalan dengan lancar dan dapat memberi manfaat bagi kita semua.

Wasalamu'alaikum warahmatullahi wabarkatuh.

Jember, 28 Nopember 2015

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

SAMBUTAN KETUA PANITIA SEMINAR NASIONAL CURRENT CHALLENGES IN DRUG USE AND DEVELOPMENT TANTANGAN TERKINI PERKEMBANGAN OBAT DAN APLIKASI KLINIS

Assalamu'alaikum warohmatullahi wabarokatuh.

Indonesia memiliki kekayaan hayati (*biodiversity*) yang tinggi, sehingga sudah sewajarnya kalau Indonesia mengembangkan penelitian obat pada sektor yang berbasis keanekaragaman hayati. Namun dari beberapa catatan diketahui bahwa lebih kurang 60% dari kandidat obat gagal dipasarkan karena terbentur pada saat uji klinis karena farmakokinetik, sifat metabolik yang tak diinginkan, dan masalah-masalah toksisitas. Oleh karena itu kami mengangkat tema seminar nasional pada pagi hari ini yaitu *Current Challenges in Drug Use and Development*, Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis.

Kegiatan ini bertujuan meningkatkan pengetahuan profesi kesehatan, khususnya apoteker dalam pengembangan obat baru berbahan dasar sintetik maupun bahan alam, rancangan formulasi khusus serta pengaplikasian terapi obat tersebut di klinik dalam dekade terakhir. Kegiatan ini juga bersinergi dengan IAI PC Jember dalam rangka pelatihan STRA online guna memfasilitasi bapak ibu apoteker dalam mempermudah proses registrasi STRA online.

Kegiatan ini diikuti oleh sekitar 187 peserta dengan 36 peserta yang mempresentasikan hasil penelitiannya dari bidang kesehatan dan kefarmasian. Sebanyak 26 penelitian dipresentasikan secara oral dan 10 penelitian dipresentasikan dalam bentuk poster. Peserta berasal dari 6 fakultas kesehatan dan akademi farmasi di Indonesia terutama di wilayah indonesia timur dan profesi apoteker yang tersebar di Jember dan Jawa Timur.

Semoga kegiatan ini bisa memberikan inspirasi dan meningkatkan kemampuan para peneliti muda di bidang pengembangan obat dan aplikasi klinis pengobatan terbaru, meningkatkan kemampuan apoteker dalam proses registrasi STRA, dan juga mempererat persaudaraan antar apoteker, tenaga kesehatan, dan peneliti farmasi dan tenaga kesehatan.

Kami mengucapkan banyak terima kasih atas kehadiran dan partisipasi semua narasumber, para peneliti, dan peserta Seminar Nasional Farmasi. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada rektor Universitas Jember, Dekan Fakultas Farmasi UNEJ, Ketua IAI PC Jember, Kaprodi Program Profesi Apoteker UNEJ, dan seluruh staff

di Fakultas Farmasi. Dan tak lupa ucapan terima kasih yang terdalam kepada seluruh teman-teman panitia Seminar Nasional Farmasi UNEJ yang telah bekerja keras mempersembahkan seminar nasional pada pagi hari ini.

Terima kasih atas perhatiannya. Wassalamu'alaikum warohmatullahi wabarokatuh.

Jember, 27 November 2015

Ketua Panitia,

Afifah Machlaurin, S.Farm., M.Sc., Apt

SUSUNAN PANITIA

SEMINAR NASIONAL FARMASI JEMBER

Ketua 1 : Afifah Machlaurin, S.Farm., M.Sc., Apt.
Ketua 2 : Nuri, S.Si., M.Si., Apt.
Sekretaris 1 : Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt.
Sekretaris 2 : Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm., Apt.
Bendahara 1 : Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt.
Bendahara 2 : Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.

Sie Kesekretariatan :

- Fransiska Maria C., S.Farm.,M.Farm., Apt.
- Indah Yulia N., S.Farm.,M.Farm., Apt.
- Dewi Dianasari, S.Farm.,M.Farm., Apt.
- Dwi Nurrahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt.

Sie Acara :

- Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt.
- Ika Puspita Dewi, S.Farm., M.Biomed., Apt.
- Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.
- Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm., Apt.
- Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

Sie Pubdok dan Sertifikat :

- Antonius Nugraha W.P., S.Farm., M.P.H., Apt.
- AnggaLegi, S.Farm., Apt.

Sie Konsumsi :

- Lidya Ameliana, S.Si.,M.Farm., Apt.
- Solihat Salama, AMd.

Sie Perlengkapan

Bagian Perlengkapan Fakultas Farmasi UJ

Sie Humas dan Sponsorship :

- Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt.
- Budipratiwi W., S.Farm., M.Sc., Apt.
- Andar Rajito, S.F., Apt.
- Indah Purnamasary, S.Si., M.Farm., Apt.

Sie Artikel :

- Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
- Lusya Oktora R.K.S., S.F., M.Sc., Apt.
- Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc., M.Sc (Res)., Ph.D., Apt
- Evi Umayah U., S.Si., M.Si., Apt.
- Dian Agung P., S.Farm.,M.Farm., Apt.

DAFTAR ISI

RUANG I

Kajian Potensi Kombinasi Virgin Coconut Oil (VCO) dan Buah Naga (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) sebagai Antioksidan Alami dan Strategi Pemasaran Produk Spa Diversifikasi VCO dan Buah Naga di Bali Made Ary Sarasmita, Ni Luh Prima Kemala Dewi.....	1
Uji Aktivitas Antiplatelet Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Etanol Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi L</i>) <i>in vitro</i> Ichlasul Amalia Erfani, Endah Puspitasari, Indah Yulia Ningsih	9
Standarisasi Ekstrak Batang Kayu Kuning (<i>Arcangelisia flava (L.) Merr</i>) Evi Umayah Ulfa dan Ema Rachmawati	20
Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Kulit Buah Pisang (<i>Musa acuminata Colla</i>) Rosida, Diyan Ajeng RA	26
Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α-Glukosidase Ekstrak Buah Kenitu (<i>Chrysophyllum cainito L.</i>) Indah Yulia Ningsih, Liza Fairuz, Endah Puspitasari, Siti Muslichah, Moch. Amrun Hidayat.....	34
Karakterisasi Simplisia dan Teh Herbal Daun Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i>) Y. Retnaningtyas, N. Kristiningrum, H. D. Renggani, N.P. Narindra	46
Efek Antiinflamasi Ekstrak Sarang Semut (<i>Myrmecodia pendens Merr & Perry</i>) dan Fraksi-Fraksinya terhadap Edema Kaki Tikus Terinduksi Karagenin Siti Muslichah	55
Perbandingan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L</i>) Sediaan Gel dan Spray Antiseptik Dwi Nurahmanto, Edwin Tanjaya, Hawwin Elina Arizka dan Siti Uswatun Hasanah	63
Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam, Teh Oolong dan Teh Hijau secara <i>in vivo</i> Diana Holiday, Fransiska Maria Christianty	73

Rendaman Daun Pepaya (<i>Carica papaya</i>) sebagai Pestisida Nabati untuk Pengendalian Hama Ulat Grayak (<i>Spodoptera Litura</i>) pada Tanaman Cabai	
Prehatin Trirahayu Ningrum, Rahayu Sri Pujiati, Ellyke, Anita Dewi M ...	80

RUANG II

Pengaruh Variasi Suhu Pemanasan dalam Pembuatan Sensor Urea secara Adsorpsi pada Plat Silika Gel	
M. Khoiriyah, B. Fauziah, A. Hakim	88
Performansi Analitik Sensor Urea Terimmobilisasi Reagen Diasetil Monoksim (DAM) dan Tiosemikarbazida (TSC) secara Adsorpsi pada Plat Silika Gel	
M.I. Fahmi, B. Fauziah, S. Maimunah	96
Pengaruh Variasi Reagen Asam dalam Fabrikasi Sensor Urea Berbasis Reagen <i>Diacetyl Monoxime-Thiosemicarbazide</i> secara Adsorpsi pada Plat Silika Gel	
H.I Badi'ah, B. Fauziah, H. Sugihantoro	106
Optimasi Hidroksipropil Metilselulosa dan Natrium Alginat sebagai Polimer pada Tablet Kombinasi <i>Floating Mucoadhesive</i> Teofilin	
Eka Deddy Irawan, Santy Yulia Subekti dan Lusya Oktora Ruma Kumala Sari	114
Pembelajaran Interprofesi Kesehatan Antara Dokter, Apoteker, dan Perawat dalam Memecahkan Masalah Terapi Obat pada Laporan Kasus untuk Meningkatkan Keamanan Pasien: Pilot Studi pada Mahasiswa Apoteker	
Made Ary Sarasmita.....	123
Pengaruh Penambahan <i>Alpha Hydroxy Acid</i> terhadap Laju Penetrasi in vitro Kafein sebagai Gel Antiselulit	
Lidya Ameliana	129
Dampak Pergantian Terapi Antibiotik Intravena ke Rute per Oral terhadap Analisis Farmakoekonomi Pasien Pneumonia Selama Rawat Inap	
Afifah Machlaurin	144
Evaluasi Potensi Interaksi Obat—Obat pada Pasien Rawat Inap Penderita Infeksi Saluran Kemih di RSD Dr. Soebandi Jember	
Imelda Rosa Indira, Antonius N. W. Pratama, Ema Rachmawati	153

Sintesis Senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on dari 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-one Broto Santoso, Dhania Fitriara, Dedi Hanwar, Muhammad Da'i, Andi Suhendi.....	229
Optimasi Komposisi Polimer dalam Tablet Propranolol Hidroklorida Sistem Mengapung dan Lekat Mukosa Lusia Oktora Ruma Kumala Sari, Siska Martin, Eka Deddy Irawan.....	234

Continuous Use of Oral Corticosteroids among Ambulatory Patients in Jember during 2010-2011 Antonius NW Pratama, Afifah Machlaurin, Viddy A Rosyidi	168
Studi Interaksi Senyawa Alkaloid <i>Piper longum</i> (L.) dengan Plasmepsin II dalam Skrining Obat Antimalaria Dwi Koko Pratoko	177
Studi <i>Molecular Docking</i> Turunan <i>N</i>-Fenilbenzamida terhadap Reseptor Dihidroorotat Dehidrogenase dari <i>Plasmodium falciparum</i> Indah Purnama Sary	188
POSTER	
Pengaruh pH pada Sintesis Imina Turunan 7-ACA (7-aminosefalosporonat Asam) dengan Vanillin (4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid) melalui Reaksi Adisi Eliminasi M. Kuswandi, Broto Santoso, Rizki Apriyani	194
Sintesis dan Uji Aktivitas Antimikroba Produk Imina melalui Reaksi 7-ACA dan Vanilin dengan Variasi Pelarut M. Kuswandi, Broto Santoso, Anik Rahmawati	199
Optimasi Suhu Sintesis Senyawa Derivat Imina dari 7-ACA (Asam 7-aminosefalo-sporanat) dengan Vanillin (4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid) melalui Reaksi Adisi-Eliminasi M. Kuswandi, Broto Santoso, Annisa Nur Aini	205
Teori Fungsi Kerapatan Mekanisme Reaksi Asam 7-Aminosefalosporin dengan Vanillin (4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid) Broto Santoso, M. Kuswandi, Sri Widyaningrum	211
Penilaian Hasil <i>Molecular Docking</i> Turunan Zerumbon sebagai Inhibitor PTP1B Menggunakan DOCK6 Broto Santoso, Muhammad R. As Sabiq, Muhammad Da'i, Dedi Hanwar, Andi Suhendi	216
Kemampuan Interaksi 3D Turunan Zerumbon dengan Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) Broto Santoso, Muhammad Haqqi, Muhammad Da'i, Dedi Hanwar, Andi Suhendi	221

KAJIAN POTENSI KOMBINASI VIRGIN COCONUT OIL (VCO) DAN BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI DAN STRATEGI PEMASARAN PRODUK SPA DIVERSIFIKASI VCO DAN BUAH NAGA DI BALI

Made Ary Sarasmita¹, Ni Luh Prima Kemala Dewi²

¹Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali

²Jurusan Agribisnis, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana, Bali

Email: arysarasmita@yahoo.com

Kelapa (*Cocos nucifera*) dan buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan tanaman yang tumbuh subur di Bali. Selama ini, kelapa dan buah naga dimanfaatkan daging buah untuk dikonsumsi. Radikal bebas merupakan senyawa yang dapat merusak tubuh dan mempercepat proses *ageing* (penuaan). Diperlukan pengembangan sediaan farmasi yang mengandung antioksidan alami dan dapat mencegah kerusakan pada kulit. Sebagai daerah pariwisata, Bali terkenal dengan produk spa yang berasal dari bahan alami. Oleh sebab itu, dilakukan kajian potensi kombinasi Virgin Coconut Oil (VCO) dan buah naga sebagai antioksidan dan pengembangan sediaan produk spa yang mengandung VCO dan buah naga, serta strategi pemasarannya agar produk ini menjadi *sustainable*. Mengkaji potensi kombinasi Virgin Coconut Oil (VCO) dan buah naga sebagai antioksidan alami berdasarkan studi kepustakaan/literatur dan strategi pemasaran produk spa diversifikasi VCO dan buah naga di Bali. Jenis penelitian adalah deskriptif dengan studi literatur (*literature research*). Literatur yang digunakan adalah publikasi nasional/internasional terkait VCO dan buah naga dalam rentang tahun 2000 – 2015. Model analisis dalam implementasi strategi adalah *Matrix Internal Factor Evaluation* dan analisis SWOT. Penyusunan matriks IFE dimulai dari pembuatan *critical success factor*, menentukan bobot dari CSF, menentukan rating setiap CSF, mengalikan bobot nilai dan rating dari masing-masing faktor, menjumlahkan semua skor untuk mendapat skor total. VCO memiliki kandungan asam lemak dan buah naga memiliki kandungan flavonoid yang bermanfaat sebagai antioksidan. Produk diversifikasi yang dihasilkan adalah sabun (produk spa). Bahan tambahan yang digunakan meliputi gliserin, propilenglikol dan NaOH. Salah satu unsur utama yang digunakan dalam strategi pemasaran sabun spa adalah unsur strategi persaingan produk yaitu segmentasi pasar, *targeting* dan *positioning*. VCO dan buah naga bermanfaat sebagai antioksidan alami untuk menjaga kesehatan kulit. Produk kesehatan ini perlu dikembangkan secara luas melalui strategi pemasaran (segmentasi pasar, *targeting* dan *positioning*).

Kata Kunci: virgin coconut oil (VCO), buah naga, antioksidan, analisis pemasaran

I. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara yang kaya dengan kandungan plasma nutfah dan tumbuhan alami. Sebagai Negara beriklim tropis, Indonesia memiliki luas areal dan produksi kelapa terbesar di dunia dengan luas areal 3.898.418 hektar dan produksi sebanyak 16.452.000 butir kelapa (APCC, 2006). Persebaran kelapa tersebut hampir merata di seluruh Indonesia, yaitu: Sumatera 32,4%, Jawa 21,8%, Sulawesi 20%, Maluku dan Papua 9,2%, Nusa Tenggara 7,5%, Kalimantan 7,3%, dan Bali 1,8%. Produksi butir kelapa Indonesia yang mencapai 16 milyar menyumbang 25,4% produksi kelapa dunia atau setara 3,3 juta ton kopra pada tahun 2009. Kebijakan pemerintah Indonesia memasukkan kelapa ke dalam komoditas klaster industri prioritas terpilih untuk dikembangkan (Departemen Perindustrian, 2005).

Pemanfaatan diversifikasi produk kelapa menjadi *Virgin Coconut Oil* (VCO) semakin banyak dikembangkan dalam skala rumah tangga hingga skala nasional. Sebagai daerah pariwisata, Bali mengembangkan tumbuhan alami menjadi sediaan produk spa yang bermanfaat bagi tubuh dan ramah lingkungan. Produk spa merupakan bagian dari produk kosmetik yang merupakan salah satu jenis sediaan farmasi.

Sebagai daerah tropis dengan intensitas paparan sinar matahari yang tinggi, masyarakat di Bali rentan terserang radikal bebas yang menyebabkan stress oksidatif. Selain dari sinar matahari, paparan radikal bebas berasal dari polusi kendaraan bermotor dan rokok. Radikal bebas merupakan senyawa yang berperan aktif terhadap proses pengrusakan integritas sel di dalam tubuh. Radikal bebas mencetus berbagai penyakit metabolik, kardiovaskular dan proses penuaan pada kulit (*ageing*). Radikal bebas dapat menginaktivasi Nitrit Oksida dan menginduksi perubahan profil ekspresi gen pada endotel dan pembuluh darah (Maslachah, 2008). Reaksi antara Nitrit Oksida dengan superoxide menghasilkan senyawa peroksinitrit (ONOO-) dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan sifat oksidan yang sangat poten (Faraci, 2003; Ungvari *et al.*, 2003).

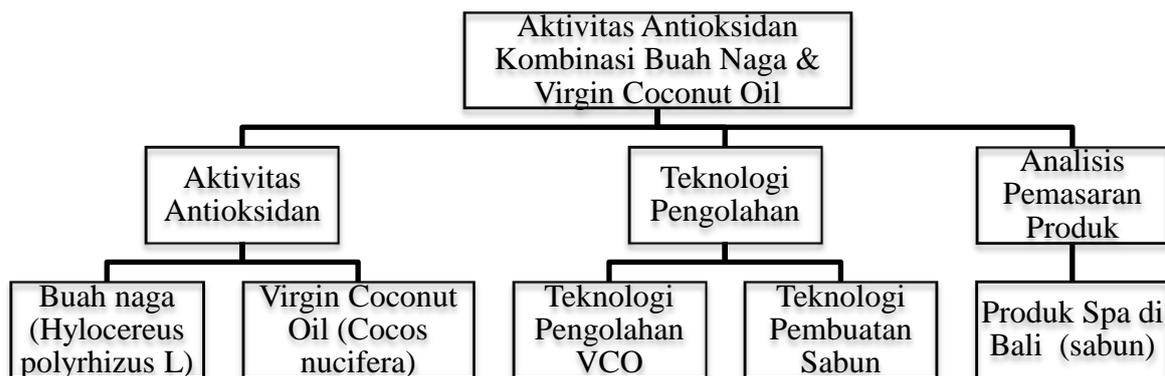
Senyawa yang dapat melawan paparan radikal bebas adalah antioksidan. Salah satu tumbuhan di Indonesia yang banyak mengandung flavonoid adalah buah naga (*Hylocereus pylorhizus*). Buah naga tumbuh di daerah tropis dan memiliki varian jenis buah naga berdaging warna merah atau buah naga berdaging warna putih. Dari penelitian Paixao *et al.* (2007), komponen flavonoid pada buah naga banyak terdapat

pada kulit buah. Senyawa fenolik yang memiliki korelasi tinggi dengan aktivitas antioksidan adalah senyawa polifenol yaitu flavonoid (Bertoncelj *et al.*, 2007). Penelitian Sari dan Hardiyanti (2013) menunjukkan total senyawa fenolik pada infus teh kulit buah naga sebanyak 223,70 mg/L lebih banyak daripada total senyawa fenolik pada teh hitam yaitu 188,00 mg/L (Budiyanti *et al.*, 2009).

Kombinasi VCO dan buah naga memiliki potensi sebagai antioksidan untuk tubuh, sehingga penting untuk dilakukan kajian aktivitas antioksidan lebih mendalam, termasuk teknologi pengolahan dan strategi pemasaran dalam bentuk produk spa (sabun). Dalam memenuhi kebutuhannya, konsumen selalu menginginkan kualitas dan mutu produk yang terjamin. Oleh sebab itu, kandungan dan pembuatan produk harus sesuai dengan standar yang ditetapkan. Agar produk dapat diterima, harus sesuai dengan selera konsumen, sedangkan di lain pihak, dengan keadaan pasar yang heterogen dan selera konsumen yang berkembang, tentunya sulit diikuti secara terus menerus. Kesadaran akan kesehatan kulit juga akan mempengaruhi permintaan produk ini, sehingga perlu dilakukan segmentasi pasar agar dapat memenuhi permintaan pasar dan berkelanjutan.

II. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian adalah deskriptif dengan studi kepustakaan/literatur. Dilakukan penelusuran literatur terkait kajian potensi VCO dan buah naga sebagai antioksidan. Literatur yang digunakan adalah publikasi nasional/internasional terkait VCO dan buah naga dalam rentang tahun 2000 – 2015. Analisis pemasaran produk spa meliputi sediaan sabun yang masing-masing mengandung kombinasi VCO dan buah naga. Model analisis dalam implementasi strategi adalah *Matrix Internal Factor Evaluation* dan analisis SWOT. Penyusunan matriks IFE dimulai dari pembuatan *critical success factor*, menentukan bobot dari CSF, menentukan rating setiap CSF, mengalikan bobot nilai dan rating dari masing-masing faktor, menjumlahkan semua skor untuk mendapat skor total (Gambar 1).



Gambar 1 Analisis aktivitas antioksidan kombinasi buah naga dan *virgin coconut oil* (VCO) dan analisis pemasaran produk diversifikasinya

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Potensi Aktivitas Antioksidan

Virgin Coconut Oil (VCO) berpotensi sebagai antioksidan alami yang bermanfaat untuk tubuh. Berdasarkan penelitian Supriatna (2008), VCO memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus dengan kondisi diabetes mellitus. VCO mengandung asam laurat yang terbukti dapat diubah di dalam tubuh manusia menjadi senyawa monolaurin (monogliserida) yang dapat membunuh virus, bakteri, cendawan dan protozoa, sehingga dapat menanggulangi infeksi virus seperti herpes, influenza dan berbagai bakteri patogen termasuk *Listeria monocytogenes* dan *Helicobacter pylori* (Budi, 2008). Menurut Five (2004), VCO berkhasiat mengurangi resiko aterosklerosis, mendukung fungsi imun, membantu mencegah osteoporosis, penyedia sumber energi, mengurangi risiko kanker, mengendalikan diabetes mellitus, menghancurkan virus herpes, hepatitis B, membantu penurunan berat badan, pencegah penuaan (*antiaging*), menghaluskan kulit, dan lain-lain.

Buah naga berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki kandungan senyawa flavonoid. Menurut Ghasemi *et al.* (2009), buah naga memiliki senyawa betasianin. Beberapa flavonoid yang terkandung dalam buah naga yaitu kaemferol, quercetin, kaemferol-3-metil eter, aromadendri, quercetin-3-metil eter, faxifolin dan eriodicytol (Ghasemi, 2009). Aktivitas antioksidan dalam buah naga dipengaruhi oleh jumlah senyawa betasianin yang terkandung di dalamnya Potensi dan aktivitas antioksidan

dapat dilakukan dengan penetapan kadar total senyawa fenolik dan penangkapan radikal bebas metode DPPH (Shofiati, 2014).

B. Teknologi Pengolahan

Teknologi Pembuatan VCO

Pembuatan VCO dapat dilakukan dengan metode enzimatik, kimia dan pemanasan. Untuk proses penjernihan rendemen minyak yang dihasilkan dapat menggunakan bahan adsorben bentonit dan zeolit. Penelitian Cahyono menunjukkan metode fermentasi merupakan metode pembuatan VCO yang paling sesuai digunakan untuk skala produksi industri rumah tangga. Fermentasi dapat menggunakan ragi tape maupun ragi tempe.

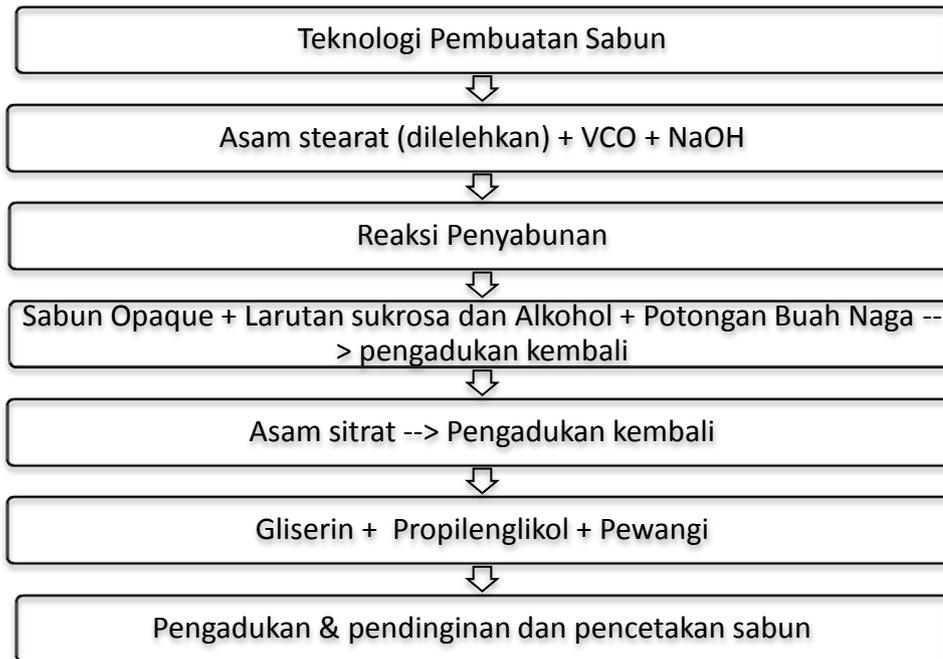
Berdasarkan Badan Standardisasi Nasional (2006) menyatakan bahwa persyaratan Standar Nasional Indonesia tentang mutu dan kualitas VCO yaitu kandungan air dan senyawa menguap maksimal 0,2%, asam lemak bebas maksimal 0,2%, bilangan iod 4,1-11,0 gram iod/100 gram, bilangan peroksida maksimal 2,0 mg/ek/kg, asam lemak laurat 45,1-53,2%, asam kaprilat 4,6-10,0%, asam kaprat 5,0-8,0%, asam miristat 16,8-21,0%, asam palmitat 7,5-10,2%, asam stearat 2,0-4,0%, asam oleat 5,0-10,0%, asam linoleat 1,0-2,5%, cemaran mikroba dengan angka lempeng total maksimal 10 koloni / ml, cemaran logam timbale maksimal 0,1 mg/kg, tembaga maksimal 0,4 mg/kg, besi maksimal 5,0 mg/kg, cadmium maksimal 0,1 mg/kg, dan arsen maksimal 0,1 mg/kg.

Teknologi Pembuatan Sediaan Sabun

Sabun merupakan produk pembersih yang dibuat dengan mereaksikan senyawa basa natrium atau kalium dengan senyawa asam lemak dari minyak nabati atau lemak hewani secara reaksi kimia. Bahan tambahan yang digunakan untuk sabun antara lain zat pewangi dan pelembab (*moisturizer*). Sabun merupakan salah satu bentuk sediaan kosmetik/spa yang dapat menggunakan bahan-bahan alami sebagai komponen aktifnya, seperti memanfaatkan VCO dan buah naga. Sabun dapat terdiri atas berbagai bentuk sediaan, seperti sabun batang (padat), sabun cair (likuid) dan sabun gel (semisolid).

Asam laurat yang terkandung dalam VCO menghasilkan sifat mengeraskan, membersihkan dan menghasilkan busa yang lembut pada sabun. Standar mutu sabun mandi padat menurut SNI 06-3532-1994 meliputi kadar air maksimal 15%, jumlah asam lemak lebih dari 70% dan jumlah alkali bebas yang dihitung sebagai NaOH sebesar maksimal 0,1%.

Untuk dapat memperoleh sabun yang diinginkan, perlu dilakukan optimasi terhadap formula produk. Beberapa bahan dalam formula pembuatan sabun meliputi : fase lemak yaitu asam stearat dan minyak VCO, fase basa yaitu Natrium hidroksida (NaOH), potongan buah naga, air, gliserin, etanol 70%, sukrosa, propilen glikol, asam sitrat dan pewangi. Propilen glikol dengan kadar > 15% dapat bertindak sebagai pengawet pada sabun.



Gambar 2 Teknologi pembuatan sediaan sabun padat (Usmania, 2012)

Analisis strategi pemasaran produk

Menurut Kotler (2002), pemasaran merupakan kebutuhan (*need*), keinginan (*wants*) dan permintaan (*demand*), produk (barang, jasa, gagasan), nilai, biaya, kepuasan; pertukaran; transaksi; hubungan dan jaringan; pasar; serta pemasaran dan prospek. Pengembangan produk ini memerlukan strategi pemasaran agar produk ini dapat menjadi *sustainable*. Strategi pemasaran merupakan pernyataan bagaimana suatu merk/lini produk mencapai tujuannya. Unsur dalam strategi pemasaran meliputi unsur strategi persaingan; unsur taktik pemasaran dan unsur nilai pemasaran.

Unsur strategi persaingan dikelompokkan menjadi 3 yaitu segmentasi pasar, *targeting* dan *positioning*. Agar dapat memenuhi permintaan pasar, dilakukan segmentasi pasar. Matriks *Internal Factor Evaluation* diperlukan untuk mengidentifikasi kekuatan dan kelemahan produk dengan pengukuran bobot, rating dan skor. Selain matriks IFE, digunakan matrix profil kompetitif (*Competitive Profil Matrix*) untuk mengidentifikasi profil usaha kompetitor. Matriks ini dilakukan dengan memberikan penilaian terhadap pangsa pasar, loyalitas konsumen, penerapan harga, kualitas produk, promosi, dan posisi keuangan dari usaha industri kosmetik lokal yang memproduksi produk spa.

IV. KESIMPULAN

Buah naga dan Virgin Coconut Oil (VCO) memiliki potensi sebagai antioksidan karena VCO mengandung asam-asam lemak dan buah naga mengandung flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan. Kombinasi VCO dan buah naga dapat bermanfaat bagi kulit dan tubuh. Untuk meningkatkan manfaat, VCO dan buah naga dapat didiversifikasi menjadi sediaan kosmetik yaitu produk spa berbentuk sabun yang berkembang di Bali.

V. Daftar Pustaka

- Acker, S., Koymans, L. M., & Bast, A. 2003. Molecular Pharmacology of Vitamin E: Structural Aspects of Antioxidant Activity. *ncbi.nlm.com* . 213-217.
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., & Golob, T. 2007. Evaluation of the Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Color of Slovenian Honey. *Food Chemistry* 105:822-828.
- Budiyati, R., Santana, P., Afiandi, N., & Mariska, S., 2009. Pengukuran Kapasitas Antioksidan Menggunakan DPPH dan Pengukuran Total Fenol. Laporan Praktikum Evaluasi Nilai Biologis Komponen Pangan. IPB. Bogor.
- Faraci, F. M. 2003. Hyperhomocysteinemia A Million Ways to Lose Control & in Arteriosclerosis. *Trombosis and Vascular. Biologi* 23 : 371-373.
- Five, B. 2004. Coconut Oil Miracle. PT. Bhuana Ilmu Populer. Kelompok Gramedia, Jakarta.

- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Ebrahimzadeh, H.M. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents Of 13 Citrus Species Peels and Tissues. 2009. Pak J Pharm Sci. 2009 Jul;22(3):277-81.
- Kotler & Phillip. 2002. Manajemen Pemasaran: Analisis, Perencanaan dan Pengendalian, Jilid I. Jakarta : Erlangga.
- Maslachah, L, Sugihartuti, R., & Kurniasanti, R. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O₂-) oleh Antioksidan Vitamin E (alpha-tokopherol) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Rejatan Listrik, Media Kedokteran Hewan, Vol, 24, No 1, Januari 2008.
- Paixao, N., Perestrelo, R., Marques, J. C. & Câmara, J. S. 2007. Relationship between Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content of Red, Rosé and White Wines. Food Chemistry 105: 204-214.
- Sari, A.R, & Hardiyanti, R. Antioxidant Level and Sensory of Dragon Fruit (*Hylocereus undatus*) Peel Tea Infusion made by Partially Fermented Process, Agroindustrial Journal Vol 2, Issue I (2013) 63-68.
- Shofiati, A., Andriani, M.A.M, & Anam, C., Kajian Kapasitas Antioksidan dan Penerimaan Sensoris Teh Celup Kulit Buah Naga (Pitaya Fruit) dengan Penambahan Kulit Jeruk Lemon dan Stevia, Jurnal Teknosains Pangan Vol 3 No 2, April 2014, ISSN: 2302-0733.
- Ungvari Z, Csiszar A, and Endwards JG. 2003. Increased Superoxide Production in Coronary Arteries in Hyperhomocystemia. Role of Tumor Necrosis Factor α , NAD(P)H, Oxidase and Inducible Nitric Oxide Synthase. J. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 23: 418 -424.
- Usmania, I.D.A. & Pertiwi, W.R. 2012, Laporan Tugas Akhir: Pembuatan Sabun Transparan dari Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil), Program Studi Diploma III Teknik Kimia, Jurusan Teknik Kimia, Universitas Sebelas Maret Surakarta

UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET FRAKSI N-HEKSANA, KLOOROFORM, DAN ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L) IN VITRO

Ichlasul Amalia Erfani, Endah Puspitasari, Indah Yulia Ningsih
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: ichlasulamaliae@gmail.com

Abstrak

Gangguan trombosis seperti penyumbatan pembuluh darah dan infark miokard maupun serebral merupakan penyakit fatal yang terkait dengan pembekuan darah. Terapi yang selama ini digunakan memiliki efek samping yang serius, sehingga diperlukan penelitian untuk mencari agen antiplatelet alami yang lebih aman. Senyawa yang ada di dalam belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebelumnya telah dilaporkan memiliki aktivitas antitrombosis. Aktivitas yang telah diteliti salah satunya sebagai antitrombosis yang meliputi aktivitas antiplatelet dari ekstrak daun, aktivitas antikoagulan dari ekstrak daun dan buah, serta aktivitas trombolitik dari ekstrak kulit batang. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antiplatelet fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada berbagai konsentrasi ekstrak yaitu 0,25 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1 mg/mL; dan 2 mg/mL. Uji aktivitas antiplatelet dilakukan dengan induksi ADP untuk mengetahui penurunan serapan plasma dalam pembentukan agregasi platelet. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas. Aktivitas antiplatelet tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi fraksi etanol 2 mg/ml.

Kata Kunci: antiplatelet, induksi ADP, fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etanol, daun belimbing wuluh

I. PENDAHULUAN

Hemostasis merupakan proses penghentian pendarahan secara spontan pada pembuluh darah yang luka. Faktor-faktor pembuluh darah yang berperan dalam proses tersebut adalah trombosit (platelet), trombolisis, dan faktor pembekuan darah (koagulan). Pembuluh darah pada proses ini akan mengalami vasokonstriksi, platelet akan beragregasi membentuk sumbat platelet pada sisi yang luka. Sistem agregasi platelet dan koagulasi terjadi secara alami dalam kondisi normal tubuh apabila terjadi luka (Dewoto, 2007).

Trombus merupakan bekuan darah yang dapat terbentuk pada sistem peredaran darah akibat hemostatik yang tidak normal yang dapat menyebabkan penyumbatan pembuluh

darah dan infark miokard maupun serebral (Grice *et al.*, 2010). Trombosis dapat terjadi di sirkulasi arteri atau vena. Trombosis pada arteri terjadi karena terdapat plak aterosklerosis yang dapat memicu terjadinya serangan jantung dan *stroke*. Trombosis pada vena terjadi karena adanya gangguan pembuluh darah, emboli paru, dan sering terjadi setelah serangan jantung dan *stroke* (Gross & Weitz, 2009).

Data statistik WHO dalam laporan kesehatan dunia tahun 2008 diperkirakan sebanyak 17,3 juta kematian disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler. Pada tahun 2013 prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia diperkirakan sebesar 0,5% atau sekitar 883.447 orang, sehingga untuk mengurangi kemungkinan terjadinya risiko ACS maka diberikan terapi farmakologi (WHO, 2014).

Belimbing wuluh atau *Averrhoa bilimbi* L. (Fam. Oxalidaceae) merupakan kerabat dekat dari belimbing pada umumnya (*A. carambola*), namun memiliki perbedaan dalam morfologi, rasa, dan penggunaan atau manfaatnya. Tanaman yang berasal dari Indonesia dan Malaysia ini tersebar serta menjadi tanaman eksotis di beberapa negara.

Belimbing wuluh dapat dikonsumsi sebagai bahan tambahan makanan dan tidak sedikit manfaat tanaman belimbing wuluh yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan karena memiliki beberapa aktivitas. Salah satu aktivitas yang pernah diteliti dari belimbing wuluh yaitu antitrombosis meliputi antiplatelet pada ekstrak daun (Yuliet *et al.*, 2014), antikoagulan pada ekstrak daun dan buah (Daud *et al.*, 2013) trombolitik pada ekstrak kulit batang (Siddique *et al.*, 2013), serta antiplatelet pada fraksi n-heksana kulit batang (Lubis, 2015).

Penelitian terhadap hasil ekstrak etanol total daun belimbing wuluh pada konsentrasi 2 mg/mL menghasilkan persen agregasi platelet $13,114 \pm 0,915$ % dan memiliki persentase inhibisi platelet yang tinggi 78,56 % (Inayah, 2015). Namun, belum dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antiplatelet pada fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antiplatelet fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun belimbing wuluh yang diperoleh di daerah kampus Universitas Jember, Kecamatan Sumbersari, Kabupaten Jember pada bulan Maret 2015, etanol 80%, akuades, DMSO, natrium sitrat (Brataco), n-heksana p.a (Smartlab), kloroform p.a (Smartlab), asetosal (Merck), pereaksi ADP (Sigma-Aldrich), tabung mikrosentrifus.

B. Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah maserator, *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), mikropipet (Socorex), alat sentrifugasi (Hettich Zentrifuge EBA 20), neraca analit digital (Pioneer), peralatan untuk mengambil darah, *ultrasonic homogenizer* (Elmasonic), dan spektrofotometer visible (Labomed UVD-2950).

C. Prosedur Kerja

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories* menggunakan model rancangan *post test only control group design* yang dilaksanakan di Laboratorium Biomedik dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada penelitian ini dibuat menggunakan metode Inayah (2015), dengan beberapa modifikasi. Daun belimbing wuluh dibersihkan, dikeringkan, dan dibuat serbuk hingga diperoleh sejumlah 300 gram. Serbuk kering diekstraksi menggunakan maserator dengan pelarut etanol 80% 4L. Hasil ekstraksi dipekatkan hingga didapat 86,435 gram ekstrak kental, lalu ditambahkan akuades hangat dan etanol 96% dengan perbandingan (1:1) kemudian dituang ke dalam corong pisah. Selanjutnya dipisahkan dengan n-heksana (1:1). Campuran didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan fase cair n-heksana kemudian dipisahkan dan ditampung. Fase cair etanol:akuades dipisahkan dengan n-heksana yang baru sebanyak volume sama sebanyak 3x replikasi. Fase yang diperoleh adalah fase cair n-heksana dan fase cair etanol:akuades. Fase cair etanol:akuades selanjutnya dipisahkan dengan kloroform (1:1). Campuran didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan fase cair kloroform kemudian dipisahkan dan ditampung. Fase

cairetanol:akuades dipisahkan dengan kloroform yang baru sebanyak volume sama sebanyak 3x replikasi. Fase yang diperoleh adalah fase cairkloroform dan fase cair etanol:akuades. Fase cairn-heksana, kloroform, dan etanol:akuades yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan oven menghasilkan fraksi kental n-heksana, kloroform, dan etanol. Fraksi kental yang dihasilkan ditimbang dan disimpan pada wadah tertutup rapat pada suhu (0-4)°C. Ketiga fraksi kemudian disuspensikan dalam 0,5% DMSO dalam akuades hingga konsentrasinya menjadi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/ml.

PPP (*Platelet rich plasma*) diperoleh dengan cara darah disentrifugasi selama 15 menit pada 1000 rpm, lapisan plasma atas dipisahkan secara hati-hati dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifuse, kemudian serum di sentrifugasikembali selama 15 menit pada 3000rpm didapatkan *Platelet poor plasma* (PPP) sebagai blanko. Untuk menjamin jumlah platelet tetap konstan, pengujian harus diselesaikan 3 jam setelah pengambilan darah (Jantan *et al.*, 2011).

Sampel uji yang telah disiapkan dalam konsentrasi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/mL serta konsentrasi kontrol positif dipipet dengan mikropipet sebanyak 100 µl, kemudian tambahkan masing-masing ke dalam 500 µl *platelet preparation* dalam tabung mikrosentrifus. Masing-masing tabung dihomogenkan dengan *vortex* kurang lebih 3 menit. Serapan sampel pengujian diukur pada panjang gelombang 600 nm sebelum dan sesudah ditambah reagen ADP 20 µl (Vogel, 2002). Setelah ditambahkan ADP, sampel uji diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 37°C. Serapan plasma diukur kembali pada panjang gelombang yang sama. Kemudian persentase agregasi platelet dan inhibisi dihitung dengan rumus pada Persamaan 1 dan 2.

$$\text{agregasi platelet} = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100\% \dots \quad (\text{Persamaan 1})$$

dengan: A= absorbansi setelah penambahan ADP;

B= absorbansi sebelum penambahan ADP

$$\text{Inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \dots \quad (\text{Persamaan 2})$$

dengan: A = persen agregasi kontrol negatif;

B = persen agregasi sampel

Uji aktivitas antiplatelet dilakukan terhadap PRP yang telah dipreparasi dan diberi fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/ml. Kontrol positif digunakan asetosal dan 0,5% DMSO dalam akuades dengan konsentrasi 1 mg/ml, sedangkan kontrol negatif hanya ditambahkan 0,5% DMSO dalam akuades. Ketiga kelompok sampel tersebut diuji aktivitas antiplatelet. Hasil uji dianalisis statistik menggunakan Kruskal wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrakkental etanol kulit daun belimbing wuluh yang dihasilkan dari proses ekstraksi didapatkan sebanyak 86,435 gram. Rendemen yang diperoleh dari proses tersebut adalah sebesar 28,81%. Berat fraksi yang dihasilkan seperti yang tertera dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil berat fraksi kental dan rendemen daun belimbing wuluh

Fraksi	Berat fraksi kental (gram)	Rendemen (%)
n-heksana	3,970	4,593
kloroform	2,320	2,684
etanol	66,84	77,330

Uji aktivitas antiplatelet *in vitro* menunjukkan adanya penurunan serapan plasma PRP setelah diberikan induksi ADP pada kelompok kontrol positif (asetosal 1 mg/ml dengan 0,5% DMSO), kelompok kontrol negatif (0,5% DMSO dalam akuades), dan kelompok uji fraksi kental n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/ml. Tiga tingkatan konsentrasi yang memiliki nilai agregasi platelet tinggi, yaitu pertama konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi n-heksana sebesar $37,011 \pm 0,841\%$; kedua konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi kloroform sebesar $35,286 \pm 0,814\%$; ketiga konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi etanol sebesar $30,031 \pm 0,566\%$. Tiga tingkatan konsentrasi yang memiliki nilai agregasi platelet rendah, di antaranya pertama pada konsentrasi 2 mg/mL fraksi etanol sebesar $8,358 \pm 1,276\%$; kedua konsentrasi 2 mg/mL fraksi kloroform sebesar $12,267 \pm 1,217\%$, konsentrasi 2 mg/mL fraksi n-

heksana sebesar $13,584 \pm 1,179\%$, dan konsentrasi 1 mg/mL fraksi etanol sebesar $14,864 \pm 0,697\%$; ketiga pada konsentrasi 1 mg/mL fraksi kloroform $18,375 \pm 0,878\%$ dapat terlihat pada Tabel 2.

Pemberian fraksi n-heksana 0,25 mg/mL menghasilkan presentase agregasi tertinggi yang terjadi pada PRP yaitu sebesar $37,011 \pm 0,841\%$ dibandingkan dengan hasil agregasi platelet pada fraksi lainnya dengan konsentrasi yang sama, tetapi lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil dari nilai agregasi kontrol negatif yaitu $49,058 \pm 3,815\%$. Sedangkan pada pemberian fraksi etanol 2 mg/mL menunjukkan presentase agregasi terendah yang terjadi pada PRP yaitu sebesar $8,358 \pm 1,276\%$ jika dibandingkan dengan presentase agregasi platelet pada fraksi lainnya dengan konsentrasi yang sama, dan jika dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar $5,447 \pm 1,219\%$ (Tabel 2).

Hasil analisis menggunakan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol pada beberapa konsentrasi menunjukkan hasil yang normal tetapi tidak homogen, sehingga dilakukan pengujian menggunakan Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan pengujian Post Hoc dengan Mann-Whitney. Kelompok fraksi etanol 2 mg/ml juga terlihat berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, namun hasil uji aktivitas antiplatelet asetosal dengan 0,5% DMSO dalam akuades sebagai kontrol positif lebih tinggi, yang menunjukkan bahwa asetosal lebih poten sebagai antiplatelet.

Agregasi platelet merupakan kemampuan platelet untuk saling melekat satu sama lain dalam membentuk sumbat (Despopoulos & Silbemagl, 2003). Pada penelitian ini agregasi dipicu dengan penambahan agonis ADP. Pengamatan pada penurunan serapan plasma dilakukan dengan melihat aktivitas platelet sebelum dan setelah pemberian larutan ADP. Induksi menggunakan ADP menyebabkan platelet teraktivasi. ADP dan faktor pengaktivasi platelet lainnya dilepaskan oleh sel-sel endotelial pada daerah yang luka selama fase vaskular. ADP menyebabkan agregasi platelet yang terdapat pada membran platelet. Platelet yang teraktivasi akan melepaskan isi granul yang akan meningkatkan agregasi dengan platelet yang lain (Yulinah *et al.*, 2008). Pengikatan ADP pada membran platelet dapat mengaktifkan enzim fosfolipase, menghidrolisis

fosfolipid untuk menghasilkan asam arakidonat. Asam arakidonat diubah oleh enzim siklooksigenase untuk membentuk prostaglandin, yang kemudian akan diubah lagi menjadi tromboksan A2 oleh tromboksan sintetase. Tromboksan A2 merupakan penginduksi terjadinya agregasi platelet.

Tabel 2. Agregasi platelet pada fraksi daun belimbing wuluh dengan konsentrasi yang berbeda.

Kelompok	Konsentrasi	Agregasi Platelet (%)	Inhibisi Platelet (%)
Kontrol negatif		49,058 ± 3,815 ^a	
Fraksi n-heksana	0,25 mg/mL	37,011 ± 0,841 ^b	24,556
	0,5 mg/mL	29,017 ± 0,839 ^c	40,852
	1 mg/mL	20,544 ± 1,094 ^d	58,103
	2 mg/mL	13,584 ± 1,179 ^e	72,310
Fraksi kloroform	0,25 mg/mL	35,286 ± 0,814 ^f	28,073
	0,5 mg/mL	26,177 ± 0,729 ^g	46,641
	1 mg/mL	18,375 ± 0,878 ^h	62,544
	2 mg/mL	12,267 ± 1,217 ^e	74,995
Fraksi etanol	0,25 mg/mL	30,031 ± 0,566 ⁱ	38,785
	0,5 mg/mL	20,109 ± 1,259 ^d	59,009
	1 mg/mL	14,864 ± 0,697 ^e	69,701
	2 mg/mL	8,358 ± 1,276 ^j	82,963
Kontrol positif		5,447 ± 1,219 ^k	88,897

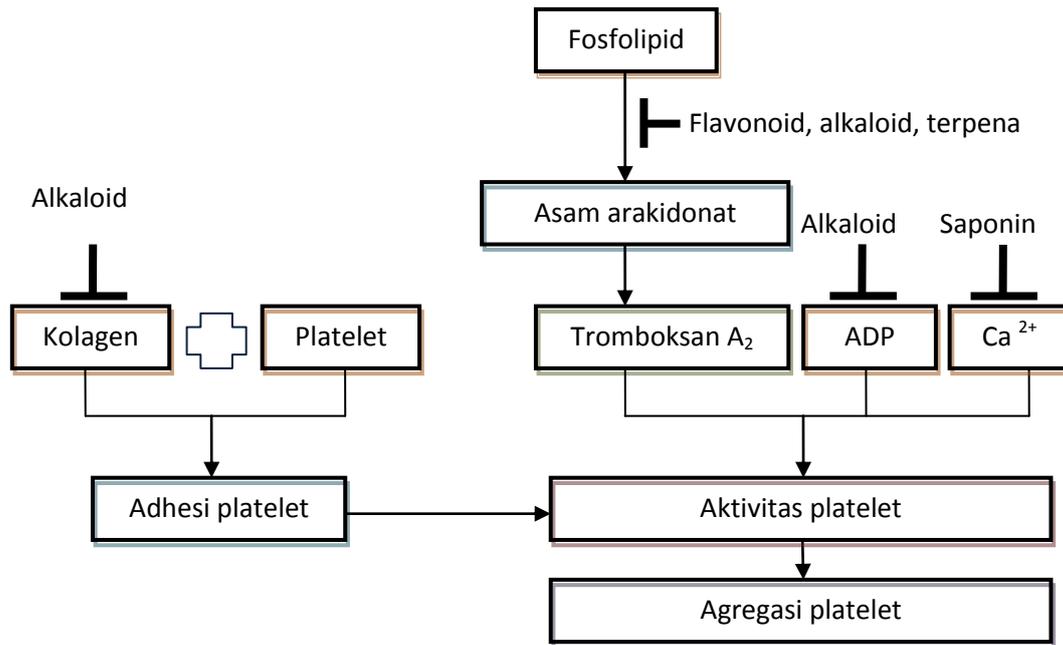
Data disajikan dengan rata-rata agregasi platelet ± SD. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan nilai agregasi platelet yang berbeda bermakna menurut uji Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Aktivitas antiplatelet tertinggi terjadi dengan penambahan fraksi etanol 2 mg/mL, yaitu persen agregasinya mencapai 8,358 ± 1,276% dan persen inhibisinya mencapai 82,963%, namun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar 5,447 ± 1,219% dan persen inhibisinya mencapai 88,897%. Penelitian yang dilakukan oleh Inayah (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh 2 mg/mL memiliki presentase inhibisi sebesar 78,56%. Fraksi etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet lebih besar daripada ekstrak etanol daun belimbing wuluh.

Penelitian yang dilakukan oleh Lubis (2015) menunjukkan fraksi n-heksana kulit batang belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet terbesar terjadi pada konsentrasi 2 mg/mL, dengan persen agregasi platelet terkecil yaitu $9,490 \pm 0,179\%$ memiliki presentase inhibisi 82,721%. Hal ini menunjukkan bahwa lebih dari satu bagian tanaman belimbing wuluh dapat memberikan aktivitas antiplatelet. Beberapa tanaman selain belimbing wuluh yang memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan untuk obat antitrombosis atau antiplatelet di antaranya *Garcinia* sp. (Jantan *et al.*, 2011) kubis merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) (Putri *et al.*, 2014) dan bawang putih (*Allium sativum*) (Arifin, 2004).

Senyawa yang berperan dalam aktivitas antiplatelet pada fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh belum diketahui secara pasti, namun diduga aktivitas yang berperan sebagai antiplatelet pada tumbuhan belimbing wuluh berasal dari golongan senyawa, di antaranya flavonoid, alkaloid, terpena, saponin. Golongan senyawa flavonoid dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat sintesis asam arakidonat (Middleton *et al.*, 2000), yang menyebabkan sintesis tromboksan A₂ terhambat sehingga agregasi platelet menjadi terhambat (Morimitsu *et al.*, 2000), begitu juga dengan golongan senyawa terpena yang bekerja menghambat produksi asam arakidonat (Xu *et al.*, 2013). Senyawa alkaloid dapat menghambat sintesis asam arakidonat, kolagen serta ADP yang dapat menginduksi terjadinya agregasi platelet (Jantan *et al.*, 2011) (Gambar 1).

Pada keadaan normal kolagen akan berikatan dengan platelet dan menyebabkan adhesi platelet. Platelet yang telah mengalami adhesi selanjutnya dapat mengalami aktivasi. Proses aktivasi platelet dimediasi oleh tromboksan A₂ serta ADP. Tromboksan A₂ akan meningkatkan vasokonstriksi dan kontraksi platelet sehingga aliran darah melambat. ADP akan meningkatkan aktivasi platelet sehingga menarik dan mengaktivasi lebih banyak platelet. Platelet yang aktif (berubah bentuk) akan mudah teragregasi (Despopoulos & Silbemagl, 2003). Aktivitas antiplatelet saponin karena senyawa ini dapat menghambat aksi dari ion kalsium (Lee *et al.*, 2005), pada peristiwa agregasi platelet ion kalsium berperan sebagai promotor vasokonstriksi pada pembuluh darah (Grince *et al.*, 2010).



Gambar 1. Mekanisme golongan senyawa sebagai antiplatelet

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet. Beberapa saran yang dapat dilakukan pada penelitian selanjutnya adalah dilakukannya identifikasi dan pemisahan senyawa fitokimia atau isolasi terhadap fraksi n-heksan, kloroform dan etanol daun belimbing wuluh dan dilakukan pengembangan aktivitas antiplatelet.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, S. 2004. Aktivitas Fibrinolisis Jus Bawang Putih (*Allium Sativum*) pada Tikus Wistar yang Dipapar Asam Traneksamat. Jember: Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.
- Daud N, Hashim H, Samsulrizal N. 2013. Anticoagulant Activity of *Averrhoa bilimbi* Linn in Normal and Alloxan-induced Diabeti Rats. Open Conf Proc J. 4: 21-26.
- Despopoulos, A., Silbernagl, S. 2003. Color Atlas of Physiology. 5th Edition. New York: Stuttgart.

- Dewoto, H. R. 2007. Antikoagulan, Antitrombotik, Trombolitik, dan Hemostatik. Dalam Gunawan, Setiabudy, Nafrialdi, dan Elysabeth (Ed.). Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Grice, D., Rogers, K. L., Griffith, L.R. 2010. Isolation of Bioactive Compounds that Relate to The Anti-Platelet Activity of *Cymbopogon ambiguus*. eCAM Advance Access.10: 1-8.
- Gross, P. L., Weitz, J. L. 2009. New Antithrombotic Drugs. Clinical Pharmacology & Therapeutics.86: 139-146.
- Inayah P. W. 2015. Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) in vitro. Jember. Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Jantan I, Jumuddin FA, Saputri FC, Rahman K. 2011. Inhibition Effects of The Extracts of *Garcinia* Species on Human Low-density Lipoprotein Peroxidation and Platelet Agregation in Relation to Their Total Phenolic Contents. J Med Plant Res. 5(13): 2699-2709.
- Lee, J.H., Jeong, S.M., Lee, B.H. 2005. Effect of Calmodulin on Ginseng Saponin-Induced Ca²⁺-Activated Cl⁻ Channel Activation in *Xenopus Laevis* Oocytes. Archive Pharmacy Research.28: 413–20.
- Lubis, A. N. 2015. Uji Aktivitas *in vitro* Antiplatelet dan Antikoagulan Fraksi n-Heksana Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Middleton, E., Chithan, K., Theoharis, C. T. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. 52 (4): 673-751.
- Morimitsu, Y., Hayashi, K., Nakagawa, Y., Fujii, H., Horio, F., Uchida, K., Osawa, T. 2000. Antiplatelet and Anticancer Isothiocyanates in Japanese Domestic Horseradish, Wasabi. Mechanism of Ageing Development. 116 (2-3): 125-134.
- Putri, R. R. R. F, Ulfa, E. U., Riyanti, R. 2014. Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). e-JurnalPustaka Kesehatan. 2 (1): 111-114.
- Siddique KI, Uddin MMN, Islam MS, Parvin S, Shahriar M. 2013. Phytochemical Screenings, Thrombolytic Activity and Antimicrobial Properties of The Bark Extracts of *Averrhoa bilimbi*. J App Pharm Sci. 3(03): 94-96.

- Vogel, H. G. (Ed.).2002.Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assays. 2ndEdition. Berlin: Springer.
- World Health Organization. 2014. Noncommunicable Diseases Country Profiles 2014. Switzerland: WHO.
- Xu, K., Wang, P., Yuan, B., Cheng, Y., Li, X., Lei, H. 2013. Structural and Bioactive Studies of Terpenes and Cyclopeptides from The Genus *Rubia*. Chemistry Central Journal. 7: 81.
- Yuliet, Yusriadi, Risah. 2014. Aktivitas Anti Agregasi Platelet Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L) pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPBOA)XVI & Muktamar XII PERHIPBA. 102-110.
- Yulinah S .E., Joseph I. S, Nurul F. 2008.Efek Antiagregasi Platelet Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Sunti Val.) dan Kombinasinya pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. JKM.7 (2): 1-18.

STANDARISASI EKSTRAK BATANG KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Evi Umayah Ulfa dan Ema Rachmawati
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: evi.farmasi@unej.ac.id; emarachmawati.unej@gmail.com

Abstrak

Kayu Kuning (*Arcangelisia flava*) telah diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi. Aktivitas farmakologi *A.flava* yang telah dibuktikan diantaranya antimikroba, antihiperlipidemia, antikanker dan antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menstandarisasi ekstrak *A.flava*. Karakteristik organoleptis, susut pengeringan, kadar flavonoid total dan kadar berberin ekstrak *A.flava* ditentukan untuk menjamin mutunya. Kadar total flavonoid ditentukan dengan menggunakan metode spektroskopi menggunakan *folin ciocalteu* sedangkan berberin ditentukan dengan KLT Densitometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *A.flava* memiliki karakteristik ekstrak kental berwarna coklat tua, rasa pahit sepat dan berbau khas. Susut pengeringan, kadar total flavonoid dan kadar berberin ekstrak *A. flava* secara berturut-turut adalah $1,68 \pm 0,07\%$ b/b; $7,05 \pm 0,26$ mgQE; $0,31 \pm 0,04\%$ b/b.

Kata Kunci: *Acangelisia flava*, standarisasi ekstrak, susut pengeringan, flavonoid total, berberin

I. PENDAHULUAN

Kayu kuning atau *Arcangelisia flava* merupakan tumbuhan merambat dari famili Menispermaceae yang sudah tergolong rawan karena terbatasnya penyebaran (Hasanah, 2013). Batang tumbuhan ini bulat, berdiameter 2-7 cm, panjangnya dapat mencapai 20 m (Heyne, 1987). Bagian dalam batang berwarna kuning dan rasanya pahit. Bentuk daun bundar telur, tebal dan kaku, permukaan daun adaksial mengkilap dan tangkai daun panjang. Bunga berbentuk malai, berumah dua, hitam dan kecil (Supriadi *et al.*, 2001). Tumbuhan yang dilestarikan di Taman Nasional Meru Betiri, Jember ini (Hasanah, 2013), batangnya mengandung senyawa berberin klorida, 8-hidroksiberberin, jatrorrhizin, limasina, palmatin yang semuanya termasuk senyawa alkaloid (Siwon, 1982). Secara empiris batang kayu kuning dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai penyakit oleh masyarakat. Berdasarkan penelitian Perry dan Metzger tahun 1980, batang dan akar kayu kuning telah digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai tonikum, sakit kuning, diare dan sakit kulit (Keawpradub *et al.*, 2005).

Berberine dapat digunakan untuk mencegah berbagai penyakit metabolit yang berkaitan dengan kelainan jantung, aktivitas antiinflamasi dan antiproliferasi (Arrogo and Sibel, 2009). Ekstrak metanol *A. flavamen* menunjukkan aktivitas antioksidan dan sitotoksik terhadap larva udang dan sel kanker payudara MCF-7 terbesar dibandingkan ekstrak petroleum eter, kloroform, dan airnya, maupun jika dibandingkan dengan ekstrak *Coscinium blumeanum* dan *Fibraurea tinctoria*. Aktivitas ini diduga disebabkan oleh kandungan berberin di dalamnya (Keawpradub *et al.*, 2005). Berberin juga memiliki aktivitas hepatoprotektor (Singh *et al.*, 2010), antidiabetes mellitus (Zhang *et al.*, 2010). Senyawa difuranoterpen *A. flava* telah terbukti memiliki aktivitas anti jamur (Suzuki *et al.*, 2011). Ekstrak kayu kuning juga memiliki aktivitas antihiperlipidemia.

Penggunaan ekstrak tanaman sebagai obat herbal memerlukan kontrol kualitas ekstrak melalui standarisasi ekstrak. Bahan baku ekstrak yang seragam diharapkan akan menjamin efek farmakologi tanaman tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan standarisasi ekstrak kayu kuning yang meliputi parameter organoleptis, susut pengeringan, kadar flavonoid total dan penetapan kadar berberin.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dilaboratorium fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah reagen folin ciocalteu, natrium karbonat, lempeng KLT, Kuersetin, Berberin, simplisia kayu kuning, metanol, kloroform. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sonicator, Erlenmeyer, cawan porselin, TLC Densitometer, Spektrofotometer UV/Vis, Kuvet, Labu takar, pipet volume.

A. Pengamatan Organoleptis Ekstrak

Pengamatan organoleptis ekstrak *A. flava* bertujuan untuk memberikan gambaran ekstrak yang meliputi bentuk, warna, rasa dan bau. Pegujian ini dilakukan dengan menggunakan panca indera langsung.

B. Parameter Susut Pengeringan

Tujuan pengukuran susut pengeringan adalah memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 – 2 gram dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup

yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105 °C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan hingga merupakan lapisan setebal 5 – 10 mm. Kemudian dikeringkan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap, hitung susut pengeringannya dalam persen.

C. Kadar Total Golongan Kandungan Kimia

Pada penetapan kadar total golongan kandungan kimia, yang ditetapkan adalah kadar total flavonoid. Kadar total flavonoid dilakukan dengan mereaksikan reagen Folin Ciocalteu (50%) ditambahkan 1 mL Natrium karbonat (7,5%) dan 450 uL sampel uji. Campuran didiamkan 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Standar yang digunakan untuk pengujian adalah Kuersetin.

D. Penetapan Kadar Berberin

Penetapan kadar berberin dalam ekstrak metanol *A. flava* dilakukan dengan metode KLT densitometri berdasarkan penelitian Keawpradub *et al.* (2005) dengan sedikit modifikasi. Fase diam yang digunakan adalah lempeng silica gel 60 F245, dan fase gerak berupa campuran kloroform metanol (6 : 1). Adanya berberin dideteksi dengan penampak bercak lampu uv dan dibandingkan dengan standar. Berberin standar digunakan sebagai pembanding berdasarkan nilai Rf, sedangkan kadar berberin dalam ekstrak metanol *A. flava* dihitung berdasarkan kurva baku berberin standar.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel *A. flava* diperoleh dari Taman Nasional Meru Betiri Desa Andongrejo Kecamatan Tempurejo Kabupaten Jember. Batang yang diambil adalah batang yang berwarna kuning dan diambil pada siang hari. Sampel tumbuhan kemudian dibersihkan dan diangin-anginkan selama 7 hari dan dipotong kecil kurang lebih 1 cm. Batang ditumbuk kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus. Serbuk ditimbang dan disimpan dalam wadah. Dari proses tersebut didapatkan serbuk simplisia sebanyak 440 gram. Serbuk simplisia selanjutnya diekstraksi menggunakan ultrasonik selama 1 jam menggunakan pelarut metanol p.a. Filtrat hasil ekstraksi kedua dikumpulkan dengan filtrat pertama kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan rotavapour hingga diperoleh ekstrak kental. Dari 2,65 liter filtrat, didapatkan hasil akhir ekstrak kental sebanyak 6,25 gram atau rendemen sebesar 1,56% b/b.

Ekstrak *A. flava* yang diperoleh distandardisasi dengan 4 parameter yang ditentukan yaitu organoleptis, susut pengeringan, kadar flavonoid total dan kadar berberin. Hasil standarisasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Standarisasi Ekstrak *A.flava*

Parameter	Nilai
Organoleptis	Kental, coklat, rasa pahit sepat, bau khas
Susut Pengeringan	1,68 ± 0,07% b/b
Kadar flavonoid total	7,05 ± 0,26 mgQE
Kadar Berberin	0,31 ± 0,04% b/b

Pemeriksaan organoleptik bertujuan untuk memberikan gambaran ekstrak berdasarkan panca indera yang meliputi bentuk, bau, rasa dan warna. Data organoleptik dapat digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perubahan fisik ekstrak selama proses penyimpanan. Perubahan fisik umumnya juga diikuti dengan perubahan kimia yang dapat mempengaruhi khasiat ekstrak.

Susut pengeringan menunjukkan jumlah senyawa mudah menguap yang hilang selama proses pengeringan. Nilai susut pengeringan ditentukan menggunakan gravimetri. Hasil susut pengeringan menunjukkan 1,6% ± 0,07% b/b. Hal ini menunjukkan dari 100 gram ekstrak terdapat 1,6 gram senyawa hilang selama proses pemanasan. Senyawa yang hilang umumnya pelarut metanol dan senyawa mudah menguap lainnya yang kemungkinan ada di dalam ekstrak *A. flava*. Penentuan kadar flavonoid total ekstrak *A.flava* menggunakan metode kolorimetri Aluminium klorida dan diukur sebagai kuersetin. Kadar flavonoid total ekstrak adalah 7,05±0,26 mgQE. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemukan pada tanaman. Flavonoid memiliki berbagai aktivitas diantaranya antioksidan dan antiinflamasi. Berdasarkan penelitian menunjukkan *A flava* mengandung flavonoid. Berberin merupakan alkaloid utama pada *A flava*. Berberin selain bertanggungjawab terhadap berbagai aktivitas farmakologi yang dimiliki oleh ekstrak *A.flava* juga digunakan sebagai senyawa penanda untuk standarisasi ekstrak. Senyawa penanda adalah senyawa

yang dipilih untuk determinasi secara kuantitatif. Berberin dipilih karena strukturnya telah diketahui secara pasti, merupakan senyawa aktif pada ekstrak *A.flava*. Kadar berberin dari penelitian ini $0,31 \pm 0,04\%$ b/b.

IV. KESIMPULAN

Ekstrak *A.flava* memiliki karakteristik kental, berbau khas, rasa pahit dan getir. Susut pengeringan, kadar flavonoid total dan berberin secara berturut turut adalah $1,6\% \pm 0,07\%$ b/b; $7,05 \pm 0,26$ mgQE dan $0,31 \pm 0,04\%$ b/b.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terimakasih kepada DIKTI (Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Indonesia) yang telah memberikan bantuan dana hibah terhadap penelitian ini, Yuniar Wahyu Rahmawati dan Putri Eka Maryani yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arrigo FG Cicero, Sibel Ertek. 2009. Berberine: Metabolic and Cardiovascular Effects in Preclinical and Clinical Trials, Nutrition and Dietary Supplements, 1, 1-10
- Departemen Kesehatan RI, 2000. Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Hasanah, M., 2013, Penelaahan terhadap Plasma Nutfah Khusus: Tanaman Obat, Komisi Nasional Sumber Daya Genetik, http://indoplasma.or.id/artikel/artikel_2005_penelaahan_pn_khusus.htm, diakses 14 Maret 2013
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III, terjemahan. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta.
- Keawpradub, N., Dej-adisai, S., and Yuenyongsawad, S., 2005, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Thai Medicinal Plants Named Khaminkhruea: *Arcangelisia flava*, *Cosciniu blumeinum*, and *Fibraurea tinctoria*., Songklanakarin J. Sci. Technol., 27 (Suppl. 2): 455-467
- Siwon, J.. 1982, A Pharmacognostical Study of Some Indonesian Medicinal Plants of The Family Menispermaceae, Leiden, 73-79.

Singh, A., Duggal, S., Kaur, N., Singh, J., 2010, Berberin: Alkaloid with Wide Spectrum of Pharmacological Activities, *Journal of Natural product*, 3:64-75.

Supriadi, 2001, *Tumbuhan Obat Indonesia: Penggunaan dan Khasiatnya*, xi, Pustaka Populer Obor, Jakarta, 6-8.

Toshisada Suzuki T, Kiyotani, Maeda Katayama, Yokotani, Syafii, Muladi, 2011, Suzuki, Furanoditerpenes from *Arcangelisia flava* (L.) Merr. and their antifungal activity, *Phytochemistry Issue*, Volume 4.

PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR FENOL TOTAL PADA EKSTRAK KULIT BUAH PISANG (*Musa acuminata* Colla)

Rosida, Diyan Ajeng RA
Akademi Farmasi Jember
Email: rosidahari@gmail.com

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang dipilih. Flavonoid merupakan senyawa fenolat (hidroksil fenolik) yang mampu bertindak sebagai antioksidan dan umumnya terdapat pada tanaman. Salah satu limbah tanaman yang mempunyai kandungan flavonoid adalah kulit buah pisang (*Musa acuminata*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menetapkan kadar flavonoid total dan melakukan pengujian aktivitas antioksidan kulit buah pisang menggunakan *diphenyl picryl hydrazil hydrate* (DPPH) sebagai radikal bebas. Metode ekstraksi yang digunakan adalah remaserasi dengan pelarut etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan katekin sebagai standar dan pengujian DPPH menggunakan metode spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan kandungan flavonoid total ekstrak etanol kulit buah pisang sebesar $0,79 \pm 0,03$ %b/b, aktivitas antioksidan tertinggi dalam IC_{50} terhadap DPPH sebesar 70,41 mg/L.

Kata Kunci: kulit buah pisang, flavonoid total, aktivitas antioksidan, IC_{50}

I. PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan masalah yang cukup serius. Banyak penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel. Faktor lingkungan seperti polusi, intensitas uv yang berlebih, suhu, bahan kimia dan kekurangan gizi dapat mengakibatkan tubuh terpapar radikal bebas. Bila radikal bebas berlebihan akan menciptakan ketidakseimbangan antara molekul radikal bebas dan antioksidan endogen. Ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya, maka terbentuk stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan struktur sel, jaringan dan organ (Leong & Shui, 2001).

Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah molekul yang dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi radikal bebas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman memiliki senyawa antioksidan seperti fenolik, flavonoid yang lebih efektif dan lebih aman daripada antioksidan sintesis, seperti *butylated hydroxytoluene*. Antioksidan asam fenolat, polifenol, flavonoid menghambat radikal peroksida, hidroperoksida atau *lipid peroxy*, menghambat mekanisme oksidatif, sehingga mencegah penyakit degeneratif, selain itu berguna sebagai anti tumor dan mempunyai efek pencegahan pada kerusakan hati. Flavonoid memiliki kemampuan anti-inflamasi dan antioksidan yang terbukti mampu menghambat proses stress oksidatif pada penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif.

Salah satu buah yang mempunyai kandungan flavonoid adalah pisang (*Musa acuminata*). Buahnya banyak disukai untuk di konsumsi secara langsung sebagai buah atau diolah menjadi produk konsumsi. Namun hal ini tidak diimbangi dengan pengolahan limbah dari kulit buah pisang yang sangat banyak jumlahnya. Limbah kulit buah pisang mewakili sekitar 30% dari buah. Hal ini merupakan masalah lingkungan karena mengandung sejumlah besar nitrogen, fosfor dan kadar air yang tinggi sehingga rentan terhadap perkembangan mikroorganisme (Gonzales *et al.*, 2009).

Total jumlah senyawa fenol pada kulit pisang (*Musa acuminat* Colla) sekitar 0,90 sampai 3,0 g/100g DW (Nguyen *et al.*, 2003; Someya *et al.*, 2002). Kulit pisang matang juga mengandung senyawa seperti anthosianin delphinidin, cyaniding, dan catekolamin (Kanazawa & Sakakibara, 2000). Berdasarkan penelitian kami sebelumnya bahwa pemberian ekstrak kulit buah pisang secara topikal mampu mempercepat perbaikan kondisi pasca luka bakar. Hal ini ditandai dengan penurunan konsentrasi lipid peroksidase, peningkatan ekspresi VEGF dan kolagen.

Berdasarkan potensi yang dimiliki kulit buah pisang sebagai antioksidan alami dan mengandung banyak komponen yang senyawa bioaktif (flavonoid, fenol), maka perlu dipelajari lebih lanjut kandungan flavonoid total dan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan DPPH secara spektrofotometri.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan penelitian adalah kulit buah pisang (*Musa acuminata* Colla) yang diperoleh dari daerah Genteng, Banyuwangi dan dideterminasi di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi; Katekin ex. Sigma; etanol teknis; plat silica gel 60 F₂₅₄ ex. E. Merck; Difenilpikril Hidrazil Hidrat (DPPH) ex. Sigma; Pelarut untuk Spektrofotometer ex. E. Merck; Freeze dryer Heidolph; rotavapor Heidolph; Spektrofotometer Hitachi U1800.

B. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratories in vitro yang bertujuan untuk menetapkan kadar katekin dan menguji aktivitas antiradikal bebas DPPH sebagai kapasitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah pisang dari daerah Genteng-Banyuwangi. Sebagai variable tergantung adalah kadar katekin dan perendaman radikal bebas DPPH; variable bebas adalah ekstrak etanol dalam berbagai konsentrasi.

C. Prosedur Kerja

Pembuatan Serbuk Kulit Buah

Ditimbang 1 kg kulit buah pisang matang dan dikeringkan dengan teknik *freeze drying*. Bahan yang telah dikeringkan kemudian ditimbang dan disimpan dalam lemari es.

Pembuatan Ekstrak dan Larutan Uji

Ditimbang 250 gram serbuk kulit buah pisang, kemudian diekstraksi dengan etanol dengan cara remaserasi. Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam ekstraksi dilakukan 2-3 kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotavapor* sehingga dihasilkan ekstrak kental.

Uji Kualitatif Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak kulit buah pisang menggunakan pembanding katekin yang ditotolkan secara berurutan. Penotolan sebanyak 10 µl pada plat silica gel 60 F₂₅₄ (E. Merck). Penampak noda menggunakan larutan FeCl₃ 10%.

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Total flavonoid menggunakan standar katekin dengan metode Sultana *et al.* (2008) dengan beberapa modifikasi yaitu 1 ml larutan ekstrak air yang mengandung 0,01 g/ml

bahan kering ditempatkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 5 ml air. Tambahkan 0,3 ml NaNO₂ (5% b/v). Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml AlCl₃ (10% b/v). Setelah 5 menit tambahkan 2 ml larutan NaOH 1 M. Terakhir tambahkan air sampai 10 ml (garis tanda pada labu) Campuran dikocok dengan kuat, ukur absorbansi warna pink pada 510 nm. Kurva baku dibuat menggunakan larutan standard katekin 10 – 100 mg/L. Semua sampel dianalisis dalam tiga replikasi dan hasil di rata-rata. Kadar flavonoid secara kuantitatif diukur dengan menggunakan kurva standar katekin.

Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak kental kulit buah pisang hasil evaporasi dilarutkan dengan etanol menjadi konsentrasi 160 mg/L, kemudian diencerkan menjadi empat variasi konsentrasi yaitu 80 ; 90,4 ; 104,3 dan 125,22 mg/L, tujuannya untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan membuat kurva IC₅₀. Masing-masing ekstrak sebanyak 1,8 mL direaksikan dengan DPPH 0,04 % sebanyak 0,5 mL. Kemudian diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516,5 nm. Penentuan IC₅₀ dibuat dari persamaan regresi antara persentase aktivitas radikal bebas DPPH pada ekstrak terhadap 5 konsentrasi tadi. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini:

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Berikut ini tabel mengenai klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois.

Tabell.1. Klasifikasi aktivitas antioksidan (Blois, 1958)

Nilai IC ₅₀	Antioksidan
<50ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
151-200 ppm	Lemah

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak kulit buah pisang menggunakan pembanding katekin yang ditotolkan secara berurutan. Penotolan sebanyak 10 µl pada plat silica gel 60 F₂₅₄ (E. Merck). Hasil positif mengandung katekin ditandai dengan penampakan

noda yang sama dengan standar katekin dan memiliki nilai Rf (waktu retensi) yang sama. Hasil elusi dan adanya noda tampak dengan penampak noda larutan FeCl₃, didapatkan Rf sebesar 0,8 (Tabel 2).

Tabel 2. Profil KLT ekstrak kulit buah pisang

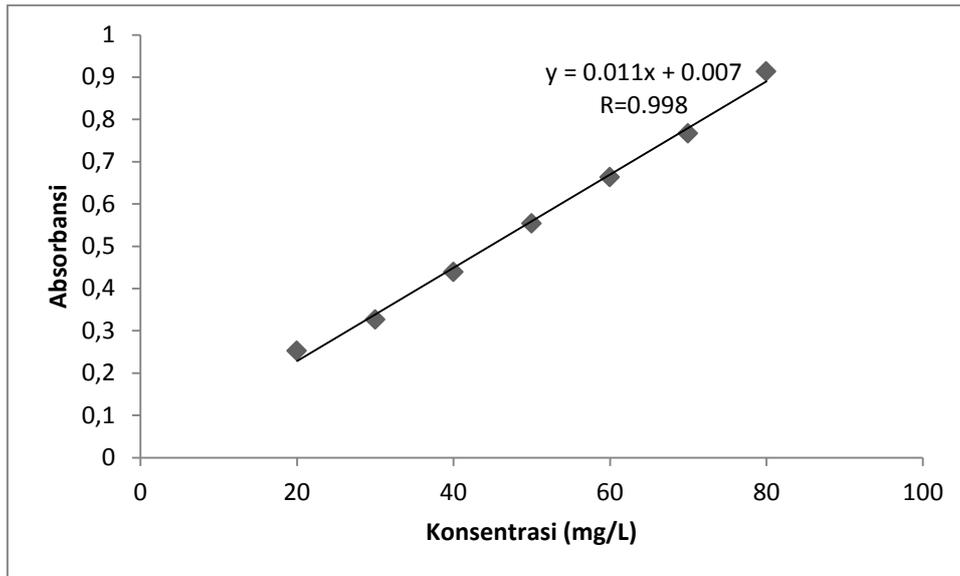
Eluen	Penampak Noda	Harga Rf	
		Ekstrak kulit buah pisang	Standar Katekin
Kloroform : Metanol : Air (6,5 : 3,5 : 1)	Larutan FeCl ₃ 10%	0,8	0,8

Pada penelitian ini untuk mengetahui kadar flavonoid total menggunakan standarisasi katekin yang terkandung pada ekstrak kulit buah pisang. Menurut Schmid *et al* (2010), ekstrak etanol kulit *Parapiptadenia rigida* yang mengandung katekin dengan konsentrasi 1 dan 10µM menunjukkan peningkatan proliferasi fibroblast sedangkan katekin dengan konsentrasi 20 µM menunjukkan anti proliferasi.

Analisis kadar katekin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer panjang gelombang maksimum spektra katekin adalah 510 nm. Hasil pengamatan dan perhitungan standar Katekin diperoleh kurva baku dengan persamaan $y = 0,011x + 0,007$; dengan $r = 0,9975$ (Gambar 1). Dari persamaan ini didapat kadar Katekin pada ekstrak kulit buah pisang sebesar $0,79 \pm 0,03$ % b/b.

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH dipilih karena ujinya sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Hanani *et al*, 2005). Pengujian radikal bebas DPPH diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Pembuatan spectra sinar tampak larutan DPPH pada rentang 400-600 nm. Hasil penelitian menunjukkan kurva normal (sigmoid) pada daerah puncak 516,5 nm. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning pucat (Permana *et al.*, 2003).

Selanjutnya dilakukan pengukuran waktu inkubasi ekstrak dengan larutan DPPH. Waktu inkubasi menggunakan 0, 10, 20 dan 30 menit. Hasil absorbansi menunjukkan bahwa absorbansi stabil mulai menit 10 sampai menit ke 30. Pada penelitian ini menggunakan waktu inkubasi 30 menit.



Gambar 1. Kurva standar katekin dalam berbagai konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 mg/L terhadap absorbansi.

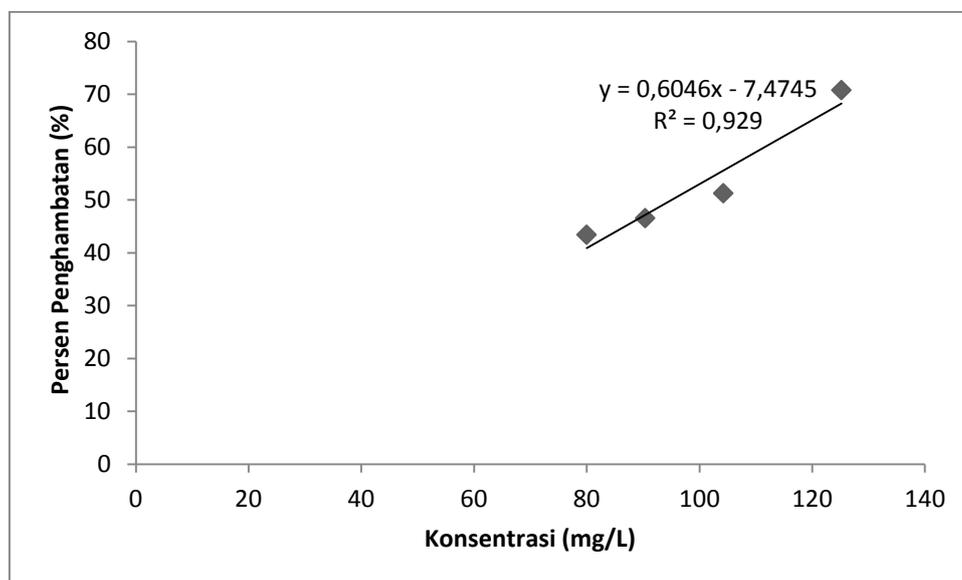
Aktivitas antioksidan dari ekstrak dinyatakan dalam persen penghambatannya terhadap radikal DPPH. Persentase penghambatan ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dalam metanol dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516,5 nm. Selanjutnya persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak kulit buah pisang dayak dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC_{50} . Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Andayani *et al.*, 2008).

Uji aktivitas antioksidan atau hambatan terhadap radikal bebas menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah pisang memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan persamaan regresi linier tersebut dapat ditentukan nilai IC_{50} ekstrak kulit buah pisang sebesar 70,41 mg/L. Berdasarkan klasifikasi aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak kulit buah pisang memiliki antioksidan yang kuat yaitu rentang 50 – 100 mg/L (Blois, 1958).

Aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH ekstrak kulit buah pisang ditentukan oleh berbagai senyawa antioksidan yang terdapat pada tumbuhan tersebut. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa kulit pisang kaya senyawa fitokimia. Senyawa fenolat yang telah diketahui memiliki efek antioksidan yang sangat kuat. Total jumlah senyawa fenol pada kulit pisang (*Musa acuminata* Colla) sekitar 0,90 sampai 3,0 g/100g DW (Nguyen, Ketsa & van Doorn, 2003 ; Someya, Yosiki & Okubo, 2002). Kulit pisang matang juga mengandung senyawa seperti anthosianin delphinidin, cyaniding, dan catekolamin (Kanazawa & Sakakibara, 2000). Selain itu telah diidentifikasi pada kulit pisang caratenoids seperti β -carotene, α -carotene dan xantophil (Subagio, Morita & Sawada, 1996), sterol dan triterpens seperti β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, cycloeucalenol, cycloartenol dan 24 metylene cycloartenol (Knapp & Nicholas, 1969).



Gambar 2. Hubungan konsentrasi ekstrak kulit buah pisang dengan persen penghambatan

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah pisang (*Musa acuminata* Colla) mengandung flavonoid total $0,79 \pm 0,03$ %b/b dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 70,41 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

Andayani, R., Y., Lisawati, & Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenol Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol 13 (1).

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

- Blois, M. S. 1958. Antioxidant Determinations By the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. Vol 181: 1999-1200.
- Gonzales R. M., Lobo, G. M., & Gonzales, M. 2010. Antioxidant Activity in Banana Peel Extraction: Testing Extraction Conditions and Related Bioactive Compounds. *Food Chem*, 199: 1030-1039.
- Hanani, E. A., Mun'im, R., & Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Calispongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol 2 (3): 127-133.
- Kanazawa, K., & Sakakibara, H. 2000. High Content of Dopamine, A Strong Antioxidant, in Cavendish Banana. *J Agric and Food Chem*. Vol 48 (3), 844–848.
- Knapp, F. F., & Nicholas, H. J. 1969. Sterols and Triterpenes of Banana Peel. *Phytochem*. Vol 8 (1): 207–214.
- Leong, L. P. & Shui, G. 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets. *Food Chemistry*. 76: 69-75.
- Nguyen, T. B. T., Ketsa, S., & Van Doorn, W. G. 2003. Relationship Between Browning and The Activities of Polyphenol Oxidase and Phenylalanine Ammonia Lyase in Banana Peel During Low Temperature Storage. *Postharvest Biol and Tech*. Vol 24 (3): 187-193.
- Permana, D. N. H., Lajis, F., Abas, A. G., Othman, R., Ahmad, M., Kitajama, H., Takayama, N., & Aimi. 2003. Antioksidative Constituents of *Hedyotis Diffusa* Wild. *Natural Product Sciences*. Vol 9 (1): 7-9.
- Schmidt, C. A., Murillo, R., Bruhn, T., Bringmann, G., Goettert, M., Heinzmann, B., Brecht, V., Laufer S. A., & Merfort, I. 2010. Catechin Derivatives from *Parapiptadenia Rigida* with *in Vitro* Woundhealing Properties. *J Nat Prod*. Vol 73 (12), 2035–2040.
- Someya, S., Yoshiki, Y., & Okubo, K. 2002. Antioxidant Coumpounds from Bananas (*Musa cavendish*). *Food Chem*. Vol 79 (3): 351-354.
- Subagio, A., Morita, N., & Sawada, S. 1996. Carotenoids and Their Fatty-Acid Esters in Banana Peel. *J Nutr Sci and Vitam*. Vol 42 (6): 553–566.
- Sultana, B., Anwar, F., Asi, M. R., Chatha, S. A. S. 2008. Antioxidant Potential of Extracts from Different Agro Wastes: Stabilization of Corn Oil. *Grasas y Aceites*. Vol 59 (3): 205-217.

UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM α -GLUKOSIDASE EKSTRAK BUAH KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.)

Indah Yulia Ningsih, Liza Fairuz, Endah Puspitasari, Siti Muslichah, Moch. Amrun
Hidayat
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: indahyulianingsih.farmasi@unej.ac.id

Abstrak

Chrysophyllum cainito L., atau kenitu mengandung beberapa senyawa polifenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tanaman ini digunakan secara tradisional dalam pengobatan diabetes mellitus dan inflamasi yang berkaitan dengan laryngitis dan pneumonia. Tiga tipe buah kenitu diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Seluruh ekstrak diuji aktivitasnya sebagai antidiabetes, serta dilakukan penentuan fenol total dan penentuan flavonoid total. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak buah kenitu hijau lonjong memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang tertinggi ($P < 0,05$). Ekstrak tersebut juga memiliki kandungan jumlah fenol total dan flavonoid total yang tertinggi ($P < 0,05$).

Kata Kunci: kenitu, *Chrysophyllum cainito* L., ekstrak, diabetes mellitus.

I. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang menjangkiti sebagian besar populasi dunia. Indonesia merupakan negara yang menempati urutan keempat dengan jumlah penderita diabetes terbesar di dunia setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Pada tahun 2000 sekitar 8,4 juta jiwa penduduk di Indonesia menderita diabetes dan jumlah tersebut diperkirakan terus meningkat hingga 21,3 juta jiwa pada tahun 2030 (Wild *et al.*, 2004).

Salah satu alternatif pengobatan diabetes adalah dengan menggunakan berbagai tumbuhan terutama yang mengandung senyawa polifenol, termasuk flavonoid. Senyawa ini bersifat antioksidan dan mampu melindungi sel β pankreas dari reaksi peroksidasi berantai yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Patel *et al.*, 2012). Selain bersifat antioksidan, senyawa polifenol juga memiliki kemampuan mengikat protein sehingga dapat menghambat enzim pengurai karbohidrat seperti α -glukosidase yang berkontribusi terhadap hiperglikemia post prandial (Griffiths & Moseley, 1980). Polifenol dalam berbagai tumbuhan seperti teh hijau, buah beri dan ketela rambat

diketahui menghambat enzim pengurai karbohidrat seperti: sukrase, α -amilase dan α -glukosidase (Hara & Honda, 1992; Matsui *et al.*, 2001; McDougall & Stewart, 2005). Karenanya, pencarian senyawa yang dapat menghambat enzim α -amilase atau α -glukosidase usus menjadi salah satu pendekatan dalam pengembangan obat antidiabetes baru (Soumyanath & Srijayanta, 2006).

Buah kenitu (*Chrysophyllum cainito* L., suku Sapotaceae) atau *star apple* adalah buah yang berasal dari Amerika Tengah dan banyak tumbuh di Indonesia. Buah kenitu diketahui mengandung berbagai polifenol antioksidan seperti: katekin, epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002). Selain itu, buah kenitu mengandung senyawa antioksidan antosianin, yaitu sianidin-3-O- β -glukopiranosida (Einbond *et al.*, 2004). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antioksidan tiga varian buah kenitu yang tumbuh di daerah Jember, Jawa Timur. Ekstrak air, ekstrak metanol dan fraksi etil asetat buah kenitu Jember menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) (Hidayat & Umiyah, 2005; Hidayat & Ulfa, 2006; Amrun *et al.*, 2007).

Di berbagai daerah di Amerika (Hawai, Miami, Kuba) dan Afrika (Abidjan-Pantai Gading), buah dan daun kenitu dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional diabetes (Morton, 1987; Koffi *et al.*, 2009). Namun, sejauh ini belum terdapat publikasi tentang aktivitas antidiabetes kenitudengan mekanisme hambatan enzim pengurai karbohidrat, seperti α -glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas hambatan α -glukosidase, menentukan jumlah fenol total dan flavonoid total dari ekstrak etanol 70% berbagai tipe buah kenitu, yaitu bulat besar (BB), bulat kecil (BK), dan hijau lonjong (HL).

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan Penelitian

Buah kenitu diperoleh dari Jember, Jawa Timur pada bulan Maret-April 2014. Seluruh sampel telah dideterminasi di Kebun Raya Purwodadi, Jawa Timur (LIPI). Buah matang yang telah dicuci bersih dan dikukus selama 10 menit, dibelah, daging buahnya dikerok dan dihaluskan. α -glukosidase, *p*-Nitrophenyl- α -D-glukopirano,

kuersetin dan asam galat diperoleh dari Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), etanol, reagen Folin-Ciocalteu, Na₂CO₃, dan AlCl₃.5H₂O diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany).

B. Preparasi Ekstrak

Ekstrak etanol 70% dibuat dengan metode ultrasonifikasi selama 2 jam dan pemekatan menggunakan *rotavapor*. Selanjutnya ekstrak dibuat larutan uji dengan rentang kadar 10-100 ppm.

C. Uji Aktivitas Penghambatan α -glukosidase

Uji aktivitas antidiabetes dilakukan menurut metode Moradi-Afrapoli *et al.* (2012). Pada penelitian ini digunakan 20 μ L α -glukosidase (0,5 unit/mL) dan 120 μ L 0,1 M dapar fosfat pH 6,9. Sebagai substrat digunakan *p*-nitrophenyl- α -D-glukopiranosida 5 mM dalam dapar yang sama. Sebanyak 10 μ L ekstrak uji dalam berbagai konsentrasi dilarutkan dalam DMSO, dicampur dengan larutan enzim dalam sumuran dan diinkubasi pada 37 °C selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 20 μ L larutan substrat dan diinkubasi lagi pada 37 °C selama 15 menit. Reaksi enzimatis dihentikan dengan penambahan 80 μ L larutan natrium karbonat 0,2 M. Absorban larutan uji dalam sumuran dibaca pada 405 nm di *microplate reader*. Sebagai blanko digunakan campuran dalam sumuran tanpa enzim α -glukosidase. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Besarnya hambatan enzim oleh sampel uji dinyatakan dengan rumus berikut:

$$\% \text{ hambatan} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{sampel}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100\%$$

Selanjutnya dihitung nilai IC₅₀ sampel, yakni konsentrasi sampel yang menghambat 50% enzim.

D. Penentuan Fenol Total

Penentuan kandungan fenol total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan sedikit modifikasi (Wolfe *et al.*, 2003). Sebanyak 0,5 mL ekstrak uji (1:10 g/L) dicampur dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air) dan 4 mL natrium karbonat (75 g/L air). Kemudian campuran dikocok selama 15 detik dan didiamkan pada 40°C selama 30 menit hingga warnanya berubah. Selanjutnya, absorban

campuran dibaca pada spektrofotometer pada 765 nm. Kandungan fenol total dinyatakan dalam mg/g ekivalen asam galat.

E. Penentuan Flavonoid Total

Penentuan kandungan flavonoid total di dalam ekstrak uji menggunakan metode Ordonez *et al.* (2006). Sebanyak 0,5 mL ekstrak uji (1:10 g/L) dicampur dengan 0,5 mL reagen AlCl_3 (2% v/v etanol) dan didiamkan selama 60 menit. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Selanjutnya absorban campuran dibaca di spektrofotometer pada 420 nm. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg/g ekivalen kuersetin.

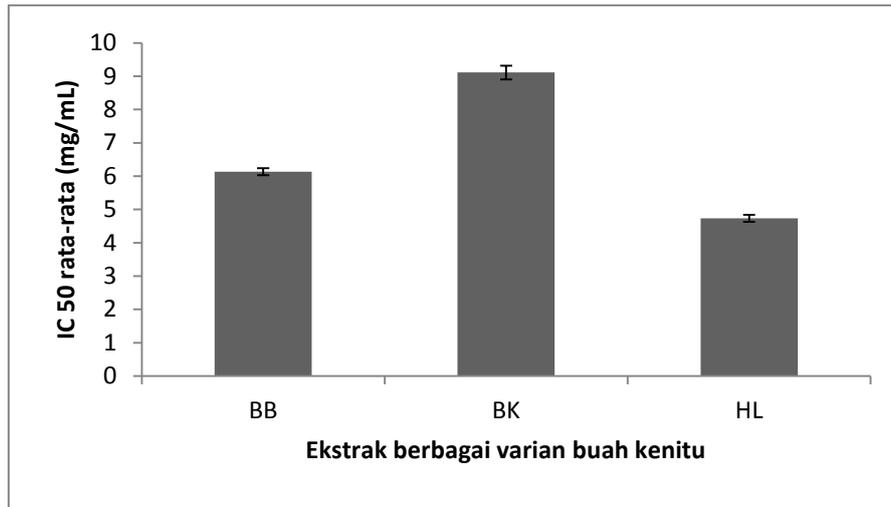
F. Analisis Statistik

Data yang diperoleh pada penelitian ini dinyatakan dengan rata-rata \pm standar deviasi dari tiga kali replikasi pengujian. Uji analisis keragaman satu arah (*One Way ANOVA*) dengan metode *Least Significance Different* (LSD) dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan diantara sampel. Harga $P < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($\alpha = 0,05$). Analisis ini dilakukan dengan menggunakan *software SPSS 10 for Windows*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Penghambatan α -glukosidase

Aktivitas penghambatan α -glukosidase bermanfaat dalam mengatasi hiperglikemia pada pasien diabetes mellitus dengan cara mengurangi jumlah monosakarida yang dapat diserap oleh usus (Febrinda *et al.*, 2013). Uji hambatan α -glukosidase pada penelitian ini dilakukan menurut metode Moradi-Afrapoli *et al.* (2012). Penentuan harga IC_{50} dilakukan berdasarkan kurva dosis-respon (tidak dicantumkan). Dari analisis statistik yang telah dilakukan, diketahui bahwa seluruh ekstrak yang diuji menghambat α -glukosidase secara signifikan ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah kenitu hijau lonjong merupakan inhibitor α -glukosidase paling poten dibandingkan ekstrak dari varian lainnya berdasarkan harga IC_{50} yang paling rendah, yaitu sebesar $4,7346 \pm 0,1073$ mg/mL. Sedangkan harga IC_{50} ekstrak buah kenitu bulat besar sebesar $6,1328 \pm 0,1031$ mg/mL dan buah kenitu bulat kecil sebesar $9,110 \pm 0,2029$ mg/mL. Perbandingan harga IC_{50} dari ketiga ekstrak tersebut tercantum pada Gambar 1.



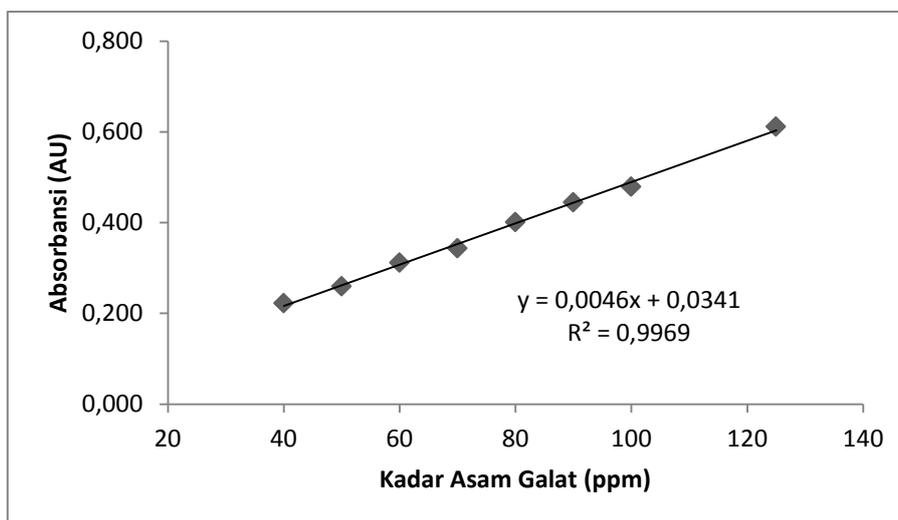
Gambar 1. Perbandingan harga IC₅₀ ekstrak etanol 70% dari berbagai varian buah kenitu.

Salehi *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak metanol *Portulaca oleracea* menunjukkan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang rendah dengan harga IC₅₀ sebesar 93,2±0,8 μ g/mL. Gao *et al.* (2013) menyatakan bahwa ekstrak teh hijau, senyawa polifenol teh hijau, dan *epigallocatechin gallate* (EGCG) memiliki aktivitas inhibisi terhadap α -amilase yang rendah dibandingkan dengan inhibisinya terhadap α -glukosidase. Hal tersebut ditunjukkan dengan harga IC₅₀ ekstrak teh hijau sebesar 4020,157 ± 172,363 μ g/mL, senyawa polifenol teh hijau sebesar 1370,812 ± 59,081 μ g/mL dan EGCG sebesar 1849,612 ± 73,475 μ g/mL. Karenanya, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol 70% buah kenitu memiliki aktivitas inhibisi α -glukosidase yang relatif rendah. Berdasarkan hasil tersebut, maka disarankan dilakukan fraksinasi lebih lanjut untuk memperoleh fraksi dengan kandungan polifenol dan flavonoid lebih tinggi.

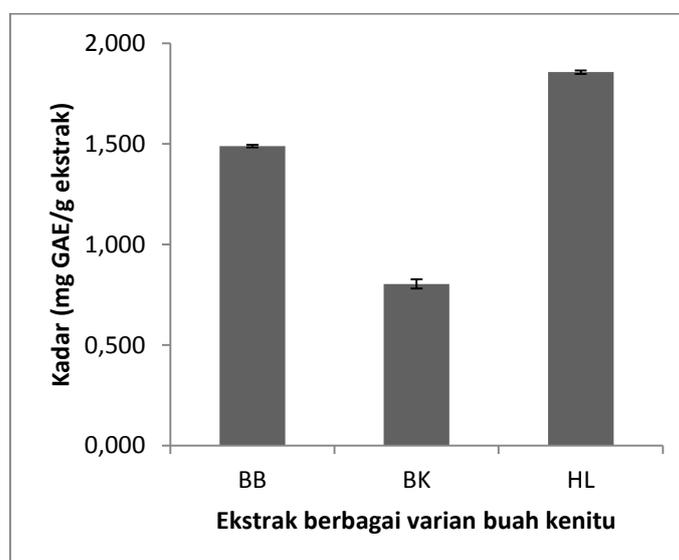
Penentuan Fenol Total

Penentuan kandungan fenol total di dalam ekstrak uji menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan sedikit modifikasi (Wolfe *et al.*, 2003). Metode tersebut berdasarkan kekuatan gugus hidroksi fenolik dalam melakukan reduksi. Adanya inti aromatis pada senyawa fenolik, termasuk fenol sederhana dapat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat menjadi molibdenum yang berwarna biru (Febrinda *et al.*, 2013). Kurva baku standar asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dapat dilihat pada Gambar 2. Ekstrak buah kenitu hijau lonjong mengandung fenol total dalam jumlah yang tertinggi, yaitu

1,8556±0,0087 mg GAE/g ekstrak. Sedangkan kandungan fenol total dari ekstrak buah kenitu bulat besar sebesar 1,4875±0,0232 mg GAE/g ekstrak, dan ekstrak buah kenitu bulat kecil sebesar 0,8028±0,0064 mg GAE/g ekstrak (Gambar 3). Dari analisis statistik diketahui bahwa kandungan fenol total dari seluruh ekstrak yang diuji adalah berbeda secara signifikan ($P<0,05$).



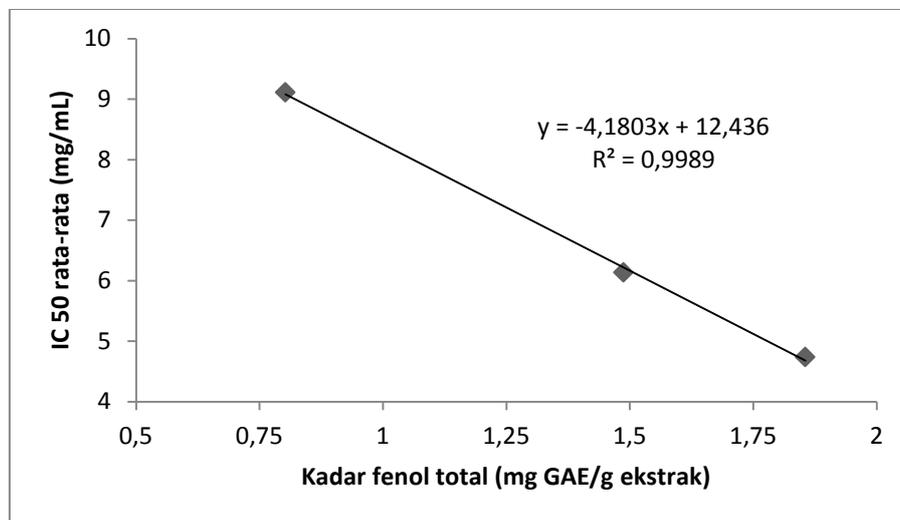
Gambar 2. Kurva baku asam galat untuk penetapan kadar polifenol total.



Gambar 3. Kadar polifenol total ekstrak etanol 70% berbagai varian buah kenitu.

Uji korelasi antara kadar fenol total dan IC_{50} dari ekstrak berbagai varian buah kenitu menunjukkan harga koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,998 (Gambar 4). Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan α -glukosidase dari ekstrak yang diuji dipengaruhi oleh kadar fenol totalnya (Javanmardi *et al.*, 2003). Karenanya, kadar fenol

total dari ekstrak buah kenitu hijau lonjong yang tinggi kemungkinan berpengaruh pada tingginya aktivitas inhibisi α -glukosidase yang menggambarkan aktivitas antidiabetes dari ekstrak tersebut. Hal tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya, misalnya pada penelitian yang dilakukan oleh Bello *et al.* (2011) diketahui bahwa ekstrak metanol *Leptadenia hastata* memiliki kandungan polifenol lebih tinggi dibandingkan ekstrak air, sehingga aktivitas inhibisi α -glukosidase dari ekstrak metanol lebih besar dibandingkan ekstrak air, yaitu sebesar 69,81%. Matsui *et al.* (2001) dan McDougall & Steward (2005) melaporkan bahwa senyawa polifenol pada *sweet potato* dan beri merupakan inhibitor α -glukosidase dengan efektivitas yang tinggi, sehingga dapat digunakan untuk mengontrol diabetes mellitus tipe 2.

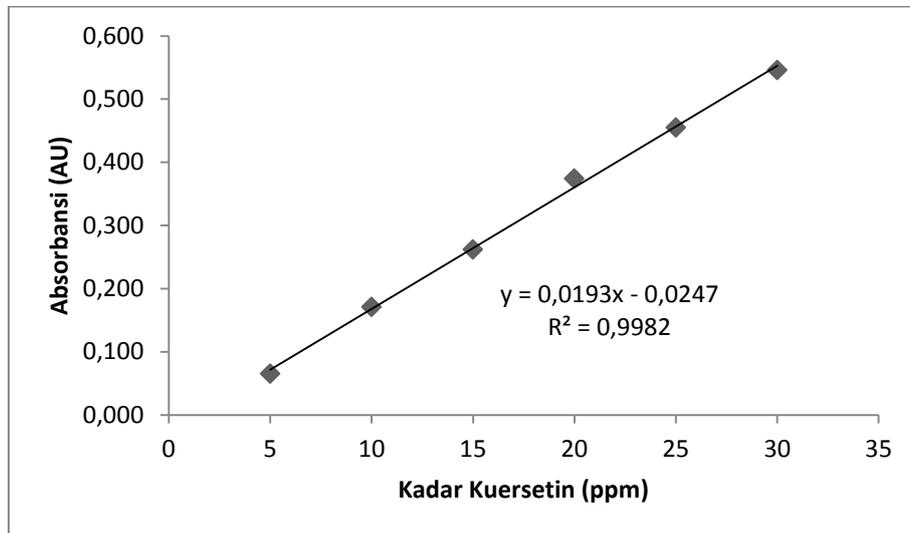


Gambar 4. Korelasi linier antara kadar fenol total (x) dan IC₅₀ rata-rata (y) dari berbagai varian buah kenitu.

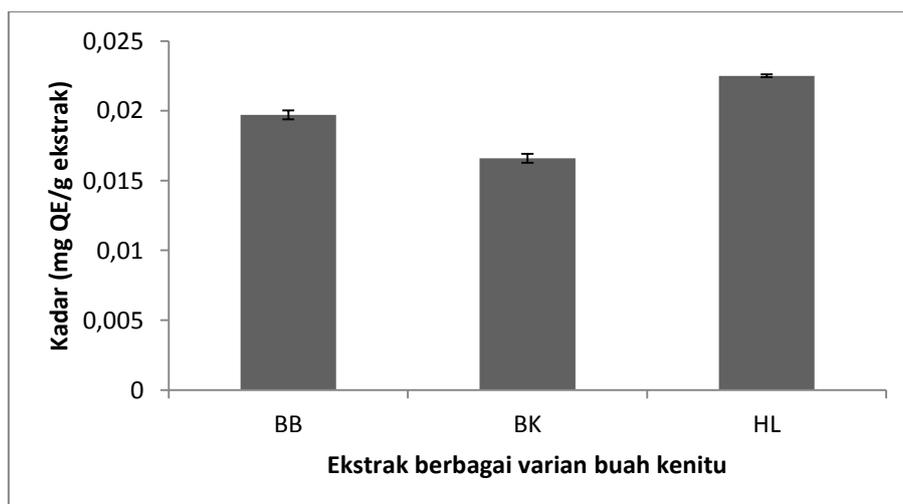
Penentuan Flavonoid Total

Penentuan kandungan flavonoid total pada ekstrak uji menggunakan metode Ordonez *et al.* (2006). Kurva baku standar kuersetin dengan reagen AlCl₃ dapat dilihat pada Gambar 5. Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa ekstrak buah kenitu hijau lonjong memiliki jumlah flavonoid total paling tinggi, yaitu 0,0225±0,0001 mg QE/g ekstrak. Sedangkan kandungan flavonoid total dari ekstrak buah kenitu bulat besar sebesar 0,0197±0,0003 mg QE/g ekstrak dan ekstrak buah kenitu bulat kecil sebesar 0,0166±0,0003 mg QE/g ekstrak. Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa

kandungan flavonoid total dari seluruh ekstrak yang diuji adalah berbeda secara signifikan ($P < 0,05$). Perbandingan kandungan flavonoid total pada buah kenitu dapat dilihat pada Gambar 6.



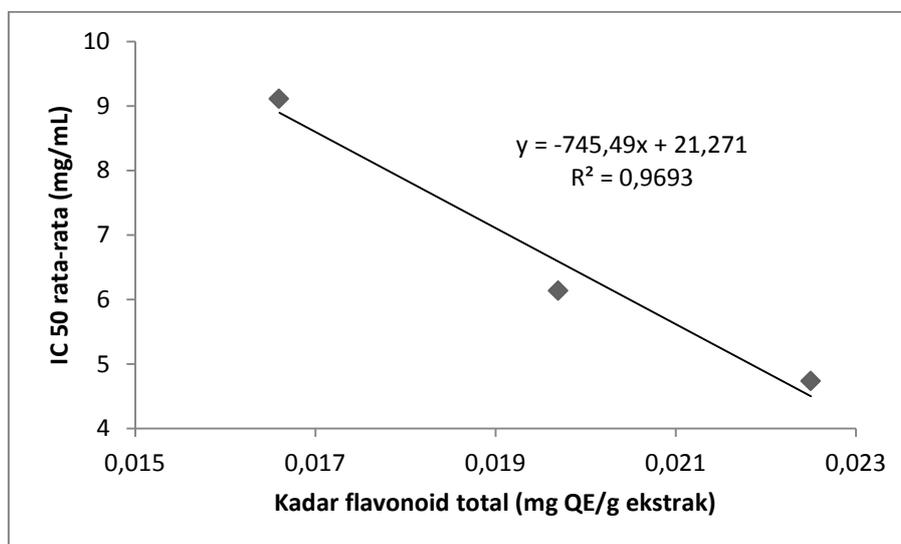
Gambar 5. Kurva baku kuersetin untuk penetapan kadar flavonoid total.



Gambar 6. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% berbagai varian buah kenitu.

Berdasarkan hasil uji korelasi antara kadar flavonoid total dan IC_{50} dari ekstrak berbagai varian buah kenitu diperoleh harga koefisien korelasi sebesar 0,969 yang mengindikasikan adanya pengaruh kadar flavonoid total terhadap aktivitas inhibisi α -glukosidase (Gambar 7) (Javanmardi *et al.*, 2003). Oleh karena itu, aktivitas inhibisi α -glukosidase ekstrak buah kenitu hijau lonjong yang tinggi kemungkinan dipengaruhi

oleh tingginya kadar flavonoid total dari ekstrak tersebut. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chai *et al.* (2014) terhadap ekstrak buah, bunga jantan dan bunga betina dari *Typha domingensis* dimana ekstrak buah memiliki kandungan polifenol dan flavonoid tertinggi yang berpengaruh pada tingginya aktivitas penghambatan α -glukosidase (harga EC_{50} sebesar 0,75 mg DM/mL). Gulati *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak *Pterocarpus marsupium* memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase tertinggi (harga IC_{50} sebesar 1,06 μ g/mL) yang berkaitan dengan tingginya jumlah fenolik total dan flavonoid total dari ekstrak tanaman tersebut dibandingkan dengan tanaman lain.



Gambar 7. Korelasi linier antara kadar flavonoid total (x) dan IC_{50} rata-rata (y) dari berbagai varian buah kenitu.

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa ekstrak etanol 70% buah kenitu hijau lonjong memiliki aktivitas antidiabetes melalui inhibisi α -glukosidase yang paling tinggi dibandingkan ekstrak dari varian buah kenitu lainnya. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa kemungkinan tingginya aktivitas inhibisi α -glukosidase tersebut dikarenakan ekstrak buah kenitu hijau lonjong mengandung jumlah fenol total dan flavonoid total paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrun, H.M., Umiyah, Umayah U.E., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, Berkala Penelitian Hayati, 13: 45-50.
- Bello, A., Aliero, A.A., Saidu, Y., Muhammad, S., 2011, Phytochemical Screening, Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastate* (Pers.) Decne, Nigerian Journal of Basic and Applied Science, 19 (2): 181-186.
- Chai, T., Mohan, M., Ong, H., Wong, F., 2014, Antioxidant, Iron-chelating and Anti-glucosidase Activities of *Typha domingensis* Pers (Typhaceae), Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 13 (1): 67-72.
- Chithrani, B., Chan, W., 2007, Elucidating the Mechanism of Cellular Uptake and Removal of Protein-coated Gold Nanoparticles of Different Size and Shapes, Nano Lett., 7:1542-50.
- De Leo, F., De Bosco, S., F., 2005, Citrus Flavonoids as Bioactive Compounds: Role, Bioavailability, Socio-economic Impact and Biotechnological Approach For Their Modification, 9th ICABR International Conference on Agricultural Biotechnology: Ten Years Later, Rovello, Italy.
- Einbond, L.S., Reynertson, K.A., Luo, X-D., Basile, M.J., Kennelly, E.J., 2004, Anthocyanin Antioxidants from Edible Fruits, Food Chemistry, 84: 23-28.
- Febrinda, A.E., Astawan, M., Wresdiyati, T., Yuliana, N.D., 2013, Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak, J. Teknol. dan Industri Pangan, 24 (2): 161-167.
- Gao, J., Xu, Ping, Wang, Y., Wang, Y, Hochstetter, D., 2013, Combined Effects of Green Tea Extracts, Green Tea Polyphenols or Epigallocatechin Gallate with Acarbose on Inhibition against α -Amylase and α -Glucosidase In Vitro, Molecules, 18: 11614-11623.
- Gopalakrishnan, A., Xu, C., J., Nair, S., S., Chen, C., Hebbar, V., Kong, A., N., 2006, Modulation of Activator Protein-1 (AP-1) and MAPK Pathway by Flavonoids in Human Prostate Cancer PC3 Cells, Arch. Pharmacol. Res., 29, 633-644.
- Griffiths, D.W., Moseley, G., 1980, The Effect of Diets Containing Field Beans of High or Low Polyphenolic Content on the Activity of Digestive Enzymes in the Intestines of Rats, J. Sci. Food Agric., 31: 255-259.

- Gulati, V., Harding, I.H., Palombo, E.A., 2012, Enzyme Inhibitory and Antioxidant Activities of Traditional Medicinal Plants: Potential Application in the Management of Hyperglycemia, *BMC Complementary & Alternative Medicine*, 12: 1-9.
- Hara, Y., Honda, M., 1992, Inhibition of Rat Small Intestinal Sucrose and Alpha-glucosidase Activities by Tea Polyphenols, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 57: 123-124.
- Hidayat, M.A., Ulfa, E.U., 2006, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, *Spirulina*, 1 (1): 79-88.
- Hidayat, M.A., Umiyah, 2005, Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Sekitar Jember, *Jurnal Ilmu Dasar*, 1411-5735.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke E., Vivanco, J.M., 2003, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian *Ocimum* Accessions, *J.Food Chemistry*, 83: 574-550.
- Koffi, N., Ernest, A.K., Marie-Solange, T., Beugré, K., Noël, Z.G., 2009, Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on the Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3 (10): 501-506.
- Luo, X.D., Basile, M.J., Kennely, E.J., 2002, Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (6): 1379-1382.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N. Matsumoto, K., 2001, Alpha-glucosidase Inhibitory Action of Natural Acylated Anthosyanins. Survey of Natural Pigments with Potent Inhibitory Activity, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 1948-1951.
- McDougall, G.J., Stewart, D., 2005, The Inhibitory Effect of Berry Polyphenols on Digestive Enzymes, *Biofactors*, 23: 189-195.
- Moradi-Afrapoli, F., Asghari, B., Saeidnia, S., 2012, In Vitro α -glucosidase Inhibitory Activity of Phenolic Constituents from Aerial Parts of *Polygonum hyrcanicum*, *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20: 37.
- Morton, J., 1987, Star Apple, in : Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida, 408-410.
- Ordonez, A.A., Gomez, J.G., Vattuone, M.A. Isla, M.I., 2006, Antioxidant Activities of *Sechium edule* Swart Extracts, *Food Chemistry*, 97: 452-458.

- Patel, D.K., Kumar, R., Laloo, D., Hemalatha, S., 2012, Diabetes mellitus: An Overview on Its Pharmacological Aspects and Reported Medicinal Plants Having Antidiabetic Activity, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 411-420.
- Salehi, P., Asghari, B., Esmaili, M.A., Dehghan, H., Ghazi, I., 2013, α -Glucosidase and α -amylase Inhibitory Effect and Antioxidant Activity of Ten Plant Extracts Traditionally Used in Iran for Diabetes, *Journal of Medicinal Plants Research*. 7 (6): 257-266.
- Soumyanath, A., Srijayanta, S., 2006, In Vitro Models for Assessing Antidiabetic Activity, in: Soumyanath, A.(Ed.), *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants*, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, 99-116.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004, Global Prevalence of Diabetes-Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030, *Diabetes Care*, 27: 1047–1053.
- Wolfe, K., Wu, X., Liu, R.H., 2003, Antioxidant Activity of Apple Peels, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:609-614.

KARAKTERISASI SIMPLISIA DAN TEH HERBAL DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*)

Y. Retnaningtyas, N. Kristiningrum, H. D. Renggani, N.P. Narindra
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Email: ifir_retnaningtyas@yahoo.co.id

Abstrak

Daun Kopi Arabika adalah tanaman yang telah banyak digunakan sebagai antidiabetik oral . Tujuan penelitian ini untuk melakukan karakterisasi simplisia daun kopi, teh herbal daun kopi dan menentukan kadar mangiferin dalam teh herbal ekstrak metanol daun kopi yang diduga berperan dalam menurunkan kadar gula dalam darah. Karakterisasi simplisia yang dilakukan meliputi penentuan parameter non spesifik dan parameter spesifik. Karakterisasi teh herbal daun kopi meliputi penentuan profil kromatogram, identifikasi golongan kimia senyawa serta penetapan kadar mangiferin dalam air seduhan teh herbal daun kopi arabika. Pada penentuan parameter non spesifik simplisia daun kopi diperoleh kadar air sebesar $0,169\% \pm 1,56\%$; kadar abu $7,753\% \pm 1,37\%$; kadar abu tak larut dalam asam sebesar $0,766\% \pm 0,815\%$. Pada penentuan parameter spesifik simplisia daun kopi diperoleh kadar sari larut air sebesar $15,697\% \pm 1,045\%$; kadar sari larut etanol $9,659\% \pm 1,73\%$. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia menunjukkan bahwa teh herbal kopi arabika mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Hasil identifikasi dengan KLT – Densitometri menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kopi memiliki profil kromatogram yang sama dengan mangiferin dengan nilai Rf sebesar 0,84 dan kadar mangiferin dalam ekstrak metanol daun kopi adalah 3,47%.

Kata Kunci: *Coffea arabica*, simplisia, ekstrak, karakterisasi.

I. PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan tanaman obat tradisional yang secara turun temurun telah digunakan sebagai ramuan obat tradisional. Pengobatan tradisional dengan tanaman obat diharapkan dapat dimanfaatkan dalam pembangunan kesehatan masyarakat. Kemajuan pengetahuan dan teknologi modern tidak mampu menggeser peranan obat tradisional, bahkan pada saat ini pemerintah tengah menggalakkan pengobatan kembali ke alam (*back to nature*) (Wijayakusuma, 1999).

Salah satu bagian tanaman yang memiliki manfaat namun masih belum banyak penelitiannya adalah daun kopi. Daun kopi mempunyai sejumlah manfaat untuk kesehatan, salah satunya adalah sebagai anti diabetes mellitus. Menurut para ilmuwan

dari Royal Botanic Gardens di Kew, London, dan *Joint Research Unit for Crop Diversity, Adaptation and Development* di Montpellier, daun kopi mengandung senyawa mangiferin yang bermanfaat mengurangi risiko penyakit jantung dan diabetes mellitus selain itu daun kopi juga mengandung antioksidan yang jumlahnya lebih tinggi dibandingkan teh hijau dan teh hitam. Hasil penemuan ini memberikan indikasi yang menjanjikan bahwa daun kopi dapat dimanfaatkan untuk diolah menjadi suatu produk herbal terstandar yang dapat dikonsumsi sehari-hari dan mempunyai khasiat sebagai anti diabetes mellitus.

Pengembangan obat tradisional diusahakan agar dapat sejalan dengan pengobatan modern. Berbagai penelitian dan pengembangan yang memanfaatkan kemajuan teknologi juga dilakukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat lebih meningkatkan kepercayaan terhadap manfaat obat tradisional tersebut. Pengembangan obat tradisional juga didukung oleh Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, tentang fitofarmaka, yang berarti diperlukan adanya pengendalian mutu simplisia yang akan digunakan untuk bahan baku obat atau sediaan galenik (BPOM, 2005; Tjitrosoepomo, G., 1994).

Salah satu cara untuk mengendalikan mutu simplisia adalah dengan melakukan standarisasi simplisia. Standarisasi diperlukan agar dapat diperoleh bahan baku yang seragam yang akhirnya dapat menjamin efek farmakologi tanaman tersebut (BPOM, 2005). Standarisasi simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang akan digunakan untuk obat sebagai bahan baku harus memenuhi persyaratan tertentu. Parameter mutu simplisia meliputi susut pengeringan, kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol serta kadar senyawa identitas. Penetapan kadar senyawa identitas yang akan dilakukan disini adalah senyawa yang memiliki aktivitas antidiabetes mellitus yaitu senyawa mangiferin. Penetapan kadar mangiferin dilakukan dengan menggunakan metoda Kromatografi Lapis Tipis dan Densitometri. Sebagai data pelengkap, dilakukan pemeriksaan organoleptik, mikroskopis, makroskopis serta identifikasi kimia simplisia. Pengetahuan akan kandungan kimia suatu tumbuhan merupakan suatu langkah awal pemahaman tumbuhan tersebut sebagai obat.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan dalam penelitian adalah daun kopi arabika, aquadest, HCl, kloroform, etanol, standar mangiferin, metanol, petroleum eter, aseton, H₃PO₄, serbuk magnesium, serbuk seng, asam oksalat, asam borat, asam asetat anhidrat, FeCl₃, gelatin, Na asetat, Pb asetat, isopropanol, natrium sulfat anhidrat, asam sulfat, NaOH, benzen, lempeng KLT.

Alat dalam penelitian ini adalah KLT- densitometer camag, HPLC Shimadzu, timbangan analitik, labu ukur berbagai ukuran, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, penyaring milipore, penyaring vakum, vial.

B. Pengambilan Sampel

Daun kopi arabika (*Coffea arabica*) segar yang berasal dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Kebun Percobaan Andungsari Kecamatan Pakem.

C. Pembuatan Simplisia

Daun Kopi arabika yang digunakan adalah daun kopi arabika segar yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Daun kopi arabika dicuci sampai bersih dan dikeringkan pada suhu 27⁰C selama 6 hari. Diserbuk kasar dan dilanjutkan dengan mengeringkan kembali daun kopi arabika pada suhu 40⁰C selama satu jam. Daun yang sudah kering diserbuk dengan menggunakan alat penggiling dan diayak hingga diperoleh serbuk berukuran 20 mesh.

D. Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pengujian parameter non spesifik, dan parameter spesifik. Pengujian parameter non spesifik simplisia meliputi penentuan kadar air, kadar abu total dan penentuan kadar abu tak larut dalam asam. Pengujian parameter spesifik meliputi pengujian Organoleptis, uji kadar sari yang terlarut dalam pelarut air, uji kadar sari yang terlarut dalam pelarut etanol.

E. Karakterisasi Teh Herbal Daun Kopi Arabika

Simplisia selanjutnya dibuat dalam bentuk sediaan teh herbal. Teh herbal selanjutnya diseduh dengan air. Air seduhan yang diperoleh kemudian diuapkan hingga kental dan diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ini digunakan untuk menguji identifikasi golongan senyawa kimia yang ada pada ekstrak tersebut. Identifikasi golongan kimia yang

dilakukan dalam penelitian ini meliputi Identifikasi alkaloid, flavonoid, Sterol/terpen, Tanin, Saponin. Karakterisasi teh herbal daun kopi arabika juga dilakukan dengan penentuan profil kromatografi dan dibandingkan dengan senyawa standar mangiferin.

F. Penentuan Kadar Mangiferin Ekstrak Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Penentuan kuantitatif mangiferin dalam ekstrak mangiferin daun kopi arabika dilakukan di Laboratorium Kimia, Fakultas Farmasi Universitas Jember, dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebagai fase diam digunakan Silika Gel GF 254. Sebagai fase gerak digunakan etil asetat:methanol:asam format:aquades (8:2:1:1) dan dideteksi pada panjang gelombang 200 nm.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Simplisia

Daun kopi arabika (*Coffea arabica*) yang digunakan dalam penelitian ini diuji secara makroskopis untuk membuktikan bahwa tanaman tersebut sesuai dengan yang dimaksud dan untuk menunjukkan keaslian tanaman yang digunakan. Hasil pengujian secara makroskopis ini selanjutnya dibandingkan dengan Pustaka (Depkes R.) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Makroskopis Daun Kopi Arabika

No	Uji Makroskopis	Percobaan	Pustaka
1.	Bentuk	Berbentuk bulat dengan ujung agak meruncing sampai bulat dan bagian pinggir bergelombang.	Daun kopi berbentuk bulat, ujungnya agak meruncing sampai bulat dengan bagian pinggir yang bergelombang (Wachjar, 1984).
2.	Ukuran	Panjang daun 13.5 cm x 5 cm (sampling).	Panjang daun 12-15 cm x 6 cm (Prastowo <i>et al</i> , 2010).
3.	Warna	Hijau tua	Hijau tua (Prastowo <i>et al</i> , 2010).
4.	Karakteristik permukaan	Halus dan mengkilat	Halus dan mengkilat (Prastowo <i>et al</i> , 2010).

Daun kopi yang digunakan dalam penelitian ini mengalami proses pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air serta menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri sehingga tidak terjadi pembusukan simplisia dan simplisia dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Penggilingan daun yang sudah kering dimaksudkan agar permukaan simplisia menjadi lebih besar dan proses penyarian menjadi lebih optimal. Gambar daun kopi sebelum dan sesudah diserbuk ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun Kopi Arabika sebelum dan sesudah diserbuk

B. Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia meliputi pengujian parameter non spesifik, dan parameter spesifik. Hasil Karakterisasi simplisia ditunjukkan pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil Pengujian Parameter Non Spesifik dan Parameter Spesifik

No	Parameter Non Spesifik(*) dan Parameter Spesifik (**)	Hasil Pemeriksaan (%)
1.	Kadar air*	0,169
2.	Kadar abu total*	7,753
3.	Kadar abu tak larut dalam asam*	0,766
4.	Kadar sari larut air**	15,697
5.	Kadar sari larut etanol**	9,659

Penetapan kadar air adalah pengukuran kandungan air pada simplisia yang telah dikeringkan dan diserbukkan. Tujuan penetapan kadar air adalah memberikan batasan minimal rentang besarnya kandungan air di dalam serbuk simplisia tersebut. Persyaratan kadar air simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 10 %. Hasil penetapan kadar air untuk simplisia daun kopi adalah 0,169%. Hal ini berarti simplisia daun kopi memenuhi persyaratan kadar air.

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui kandungan total mineral dalam simplisia. Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan kadar abu total dari simplisia daun kopi arabika yang digunakan dalam penelitian ini adalah $7,753 \% \pm 1,37\%$. Hasil penentuan kadar abu tak larut asam simplisian yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan kadar abu tak larut dalam asam untuk daun kopi arabika adalah $0,766\% \pm 0,815\%$. Kadar abu tak larut asam ini menunjukkan jumlah abu yang diperoleh dari faktor eksternal, bersumber dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah silikat (Depkes RI, 2000:17)

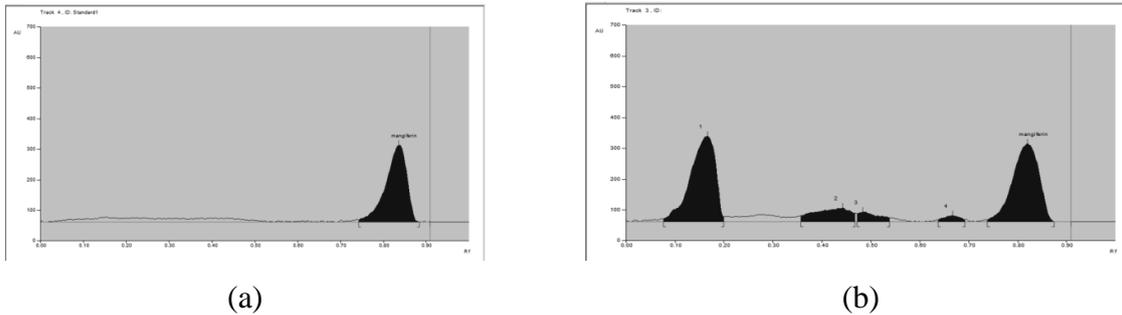
Uji kadar sari yang terlarut dalam pelarut air dilakukan dengan menimbang 5,0 g serbuk simplisia kemudian dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air kloroform menggunakan labu tersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, disaring dan 20 ml filtrat yang diperoleh diuapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105⁰C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap ekstrak awal (Ditjen POM, 2000). Kadar Sari larut air dari daun kopi arabika adalah sebesar 15,697±1,045%. Penentuan kadar sari terlarut dalam pelarut air bertujuan untuk memperoleh gambaran awal jumlah senyawa yang dapat tersari dengan pelarut air. Pengujian Kadar Sari yang Terlarut dalam Pelarut Etanol dilakukan dengan menimbang sejumlah 5,0 gram serbuk simplisia yang dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol (95%) menggunakan labu bersumbat selama 6 jam dan selama 18 jam. 20 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105⁰C hingga bobot tetap. Kadar dihitung dalam persen senyawa yang larut dalam etanol (95%) dihitung terhadap ekstrak awal (Ditjen POM, 2000). Kadar sari terlarut dalam pelarut etanol simplisia daun kopi arabika adalah 9,659% ±1,73%. Berdasarkan hasil pengujian kadar sari larut dalam pelarut air dibandingkan dengan kadar sari larut dalam pelarut etanol, menunjukkan bahwa jumlah senyawa polar yang larut dalam pelarut air lebih besar dibandingkan dengan senyawa non polar yang larut dalam pelarut etanol, dan masih memenuhi persyaratan yang disyaratkan.

C. Karakteristik Teh Herbal

Profil Kromatogram

Pengujian profil kromatogram dilakukan pada larutan uji teh celup daun kopi arabika yang sudah dipekatkan. Sebagai pelarut ekstrak digunakan methanol. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat:methanol:asam format:aquades (8:2:1:1). Sebagai senyawa standar digunakan mangiferin yang bermanfaat sebagai antidiabetes melitus.

Profil Kromatografi menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kopi arabika memiliki nilai Rf yang sama dengan senyawa standar mangiferin yaitu sebesar 0,84. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kopi arabika memiliki kandungan mangiferin. Profil Kromatogram standar dan sampel ditunjukkan pada Gambar 2 berikut ini.



Gambar 2. Profil kromatogram standar mangiferin (a) dan profil kromatogram sampel (b)

Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

Ekstrak kental diperoleh dari seduhan teh herbal daun kopi arabika diuapkan hingga kental. Ekstrak ini digunakan untuk menguji identifikasi golongan senyawa kimia yang ada pada ekstrak tersebut. Identifikasi kandungan golongan senyawa dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa berdasarkan golongannya sebagai informasi awal kandungan senyawa yang terdapat pada masing – masing ekstrak uji. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan kontrol positif. Sebagai kontrol positif digunakan simplisia yang memiliki kandungan golongan senyawa yang akan diuji. Kontrol positif untuk golongan senyawa alkaloid digunakan *Piperis nigri fructus*, untuk tanin digunakan daun teh. Hasil pengujian menunjukkan bahwa air seduhan teh herbal kopi arabika yang sudah dipekatkan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin .

Penentuan Kadar Mangiferin dalam Ekstrak Metanol Daun Kopi Arabika

Penentuan kadar mangiferin dalam ekstrak metanol daun kopi arabika dilakukan dengan menggunakan metode KLT- Densitometri. Sebagai pelarut digunakan metanol, fase diam digunakan Silika GF 254. Fase gerak digunakan etil asetat:methanol:asam format:aquades (8:2:1:1). Noda hasil eluasi di evaluasi dengan densitometer pada λ 200 nm. Hasil Penentuan kadar menunjukkan kadar mangiferin dalam ekstrak metanol daun kopi arabika adalah 3,47% .

IV. KESIMPULAN

Pemeriksaan makroskopis simplisia menunjukkan bahwa daun kopi arabika memiliki bentuk , ukuran 13.5 x 5 cm, warna hijau muda-tua, dengan karakteristik permukaan tulang daun menyirip. Hasil penentuan parameter non spesifik simplisia yang meliputi

susut pengeringan, kadar air, kadar abu total dan kadar abu larut asam berturut –turut adalah $0,169\% \pm 1,56\%$; $7,753\% \pm 1,37\%$; $0,766\% \pm 0,815\%$. Hasil penentuan parameter spesifik simplisia yang meliputi kadar sari larut air, kadar sari larut etanol berturut – turut adalah $15,697\% \pm 1,045\%$ dan $9,659\% \pm 1,73\%$. Ekstrak metanol daun kopi arabika berwarna hijau tua, berbau khas, dan BJ sebesar $0,792\text{ g/ml}$ simplisia dan ekstrak metanol mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Profil Kromatografi menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kopi arabika memiliki nilai RF yang sama dengan senyawa standar mangiferin yaitu sebesar 0,84. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol kopi arabika memiliki kandungan mangiferin sebesar 3,47% .

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1993. Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. Jakarta: Pokja Ilmiah Phytomedica
- Anonim. 2013. Tea Made from Coffee Leaves Found to Beneficial for Health, <http://www.telegraph.co.uk/science/science-news/9797675/Tea-made-from-coffee-leaves-found-to-beneficial-for-health.html> (diakses 6 Maret 2013).
- Campa, C., Mondolot, L., Rakotondravao, A., Bidel, L., Gargadenec, A., Couturon, E., Fisca, P., Rakotomalala, J., Jay-Allemand, C., & Davis, A. P. 2012, A Survey of Mangiferin and Hydroxycinnamic Acid Ester Accumulation in Coffee (*Coffea*) Leaves: Biological Implications and Uses. *Annals of Botany*. 110: 595–613.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2002. Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid IV*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional dan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (1983). TOGA (Tanaman Obat Keluarga) Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ditjen POM (2000) Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ichiki, H., Miura, T., Kubo, M., Ishihara, E., Komatsu, Y., Tanigawa, K., Okada, M., 1998. New Antidiabetic Compounds, Mangiferin and Its Glucoside. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 21, 1389–1390

- Kuit M, Jansen DM, Thiet NV. 2004. Coffee Handbook: Manual for Arabica Cultivation. Tan Lam Agricultural Product Joint Stock Company.
- Leiro, J., Arranz, J.A., Yanez, M., Ubeira, F.M., Sanmartin, M.L., Orallo, F., 2004. Expression Profiles of Genes Involved in The Mouse Nuclear Factor-Kappa B Signal Transduction Pathway are Modulated by Mangiferin. International Journal of Immunopharmacology 4, 763–778.
- Muruganandan S, Srinivasan K, Gupta S, P.K. Gupta PK, Lal J. 2005. Effect of Mangiferin on Hyperglycemia and Atherogenicity in Streptozotocin Diabetic Rats, Journal of Ethnopharmacology 97: 497–501
- Yoshikawa, M., Nishida, N., Shimoda, H., Takada, M., Kawahara, Y., Matsuda, H., 2001. Polyphenol Constituents from Salacia Species: Quantitative Analysis of Mangiferin with Glucosidase and Aldose Reductase Inhibitory Activities. Yakugaku Zasshi 121, 371–378.

EFEK ANTIINFLAMASI EKSTRAK SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) DAN FRAKSI-FRAKSINYA TERHADAP EDEMA KAKI TIKUS TERINDUKSI KARAGENIN

Siti Muslichah
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: muslichahsiti@unej.ac.id

Abstrak

Sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) merupakan tumbuhan yang secara tradisional digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit termasuk radang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi ekstrak sarang semut dan fraksi-fraksinya dibandingkan dengan asetosal (10 mg/kg bb). Sebanyak 30 ekor tikus (2-3 bulan) dengan berat badan 200-250g dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu dua kelompok kontrol yang masing-masing diberikan CMC Na 1 % dan Asetosal dosis 10 mg/kgbb, dan 4 kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol sarang semut dengan dosis 102 mg/kg bb. Bahan uji diberikan 1 jam sebelum penyuntikan karagenin 1% sebagai induksi edema. Pengukuran volume edema dilakukan setiap 30 menit sampai 180 menit. Data volume edema digunakan untuk menghitung persen reduksi radang, kemudian data dianalisis menggunakan *one-way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok. Ekstrak dan fraksi-fraksi sarang semut dosis 102 mg/kg bb menunjukkan aktifitas antiinflamasi yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol CMC-Na, namun masih di bawah aktifitas kontrol asetosal dosis 10 mg/kg bb.

Kata Kunci: *Myrmecodia pendens*, antiinflamasi, karagenin, sarang semut, NSAID

I. PENDAHULUAN

Sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) merupakan salah satu tumbuhan yang biasa digunakan untuk pengobatan asam urat dan rematik oleh suku-suku di Bogondini dan Tolikara di Papua. Sarang semut merupakan tumbuhan epifit dari suku Rubiaceae yang menempel di pohon-pohon besar, yang batang bagian bawahnya menggelembung berisi rongga-rongga yang dihuni sarang semut jenis tertentu (Simanjuntak dan Subroto, 2010). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa infus sarang semut pada konsentrasi 5-20% b/v memiliki efek menurunkan kadar asam urat kelinci yang diinduksi kalium bromat (Tayeb *et al.*, 2012). Ekstrak etanol sarang

semut juga memiliki aktivitas antiinflamasi (Djafar, 2010). Sarang semut mengandung antara lain flavonoid, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Subroto dan Saputro, 2006).

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak atau zat-zat mikrobiologi. Inflamasi dapat juga diartikan sebagai usaha tubuh untuk mengaktifasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur perbaikan jaringan. Tanda-tanda inflamasi adalah kemerahan, bengkak, panas, nyeri, dan hilangnya fungsi (Mycek *et al*, 2001).

Obat modern yang biasa digunakan sebagai antiinflamasi adalah obat golongan AINS (Antiinflamasi Non Steroid) yang pada umumnya mempunyai efek samping tukak lambung (Katzung, 1998). Oleh karena itu perlu dicari pengobatan alternatif untuk melawan dan mengendalikan rasa nyeri dan peradangan dengan efek samping yang relatif lebih kecil, misalnya obat yang berasal dari tumbuhan (Gunawan & Mulyani, 2004). Kandungan senyawa-senyawa dalam tanaman sarang semut yang berpotensi sebagai antiinflamasi mendasari penelitian ini.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan adalah umbi sarang semut dari Papua Barat, etanol, etil asetat, etanol 70%, CMC-Na, karagenin, dan asetosal sebagai pembanding. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L) jantan galur Wistar sebanyak 30 ekor dengan umur 2-3 bulan dan berat badan 200-250 gram.

B. Pembuatan ekstrak etanol 70% dan fraksi-fraksinya

Sarang semut dibersihkan lalu dipotong-potong dan dikeringanginkan sampai kering, lalu dihaluskan dengan blender. Serbuk yang telah halus dimaserasi dalam etanol 70% selama 3 hari lalu disaring dengan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator .

Sebagian ekstrak kental digunakan untuk bahan uji sebagian lainnya difraksinasi dengan n-heksana dengan perbandingan 1:1 dalam corong pisah, didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan fraksi n-heksana dan lapisan residu fraksi n-heksana, kemudian lapisan residu n-heksana difraksinasi dengan etil asetat dengan

perbandingan 1:1 didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan etil asetat dan lapisan etanol 70%. Hasil fraksi n-heksana, etil asetat, dan etanol kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental. Fraksi kental kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40– 50⁰C.

C. Penyiapan hewan uji

Semua hewan uji yaitu sebanyak 30 tikus jantan galur Wistar dipelihara dalam kondisi yang sama. Sebelum digunakan tikus diadaptasikan dengan lingkungan penelitian selama satu minggu dan sebelum pemberian perlakuan, tikus dipuasakan 18 jam dengan tetap diberi air minum

D. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Edema buatan ditimbulkan dengan menginjeksikan karagenin 1% yang dilarutkan dalam larutan fisiologis sebanyak 0,1 mL pada telapak kaki tikus secara subplantar. Pada dosis tersebut sudah dapat menimbulkan edema yang dapat teramati secara jelas. Perlakuan yang diberikan adalah dengan membagi tikus sebanyak 30 ekor dibagi menjadi 6 kelompok. Tikus ditimbang dan kaki kanan belakang diberi tanda di atas lutut, lalu volume udem segera diukur dengan mencelupkan telapak kaki (sampai tanda) ke dalam air raksa pada alat pletismometer (volume kaki sebelum diberi karagenin).

- a. Tikus kelompok kontrol negatif: Telapak kaki kanan, disuntik dengan karagenin 1% 0,1 ml dan segera diukur volume udem dengan mencelupkan telapak kaki (sampai tanda) ke dalam air raksa pada alat pletismometer (volume kaki setelah diberi karagenin= V_0)
- b. Tikus perlakuan dan kontrol positif: Tiap kelompok masing-masing diberikan perlakuan bahan uji secara per oral. Satu jam sesudah pemberian bahan uji, tikus disuntik dengan karagenin seperti pada tikus kontrol. Pengukuran volume udem dilakukan segera pada menit ke 0, 30, 60, 120, dan 160 setelah pemberian karagenin. Perhitungan volume udem telapak kaki tikus yang diinduksi karagenin tiap waktu dihitung dengan menggunakan rumus :

Vol udem = Vol. kaki setelah diberi karagenin – Vol. kaki sebelum diberi karagenin

Perhitungan % penghambatan inflamasi untuk tiap ekstrak dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Vol. udem tikus kontrol} - \text{Vol. Udem tikus perlakuan}}{\text{Vol. Udem tikus kontrol}} \times 100\%$$

E. Analisis Data

Data % penghambatan inflamasi diuji dengan Analisis varians satu arah (*One -way Anova*). Syarat untuk melakukan uji *One-way ANOVA* adalah data harus homogen. Oleh karena itu terlebih dahulu dilakukan uji homogenitas variansi. Jika data homogen maka dilanjutkan dengan *One way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95%, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat perbedaan antar perlakuan signifikan ($p < 0,05$) atau tidak signifikan ($p > 0,05$).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian induksi karagenin dapat meningkatkan volume udem tikus yang dapat dilihat pada volume udem sebelum dan sesudah pemberian karagenin. Edema pada kaki belakang tikus atau mencit yang diinduksi karagenin adalah model standar percobaan inflamasi akut (Chakraborty *et al.*, 2004) yang responsif terhadap siklooksigenase (COX) inhibitor dan sering digunakan untuk penapisan efek obat-obat antiinflamasi non steroid (NSAID) (Logeswari *et al.*, 2013). Karagenin dipilih untuk menguji obat antiinflamasi karena tidak bersifat antigenik dan tidak menimbulkan efek sistemik (Chakraborty *et al.*, 2004).

Tabel 1 menunjukkan volume edema pada menit ke 160. Volume edema pada kelompok perlakuan dan kontrol asetosal lebih kecil daripada kelompok plasebo.

Tabel 1. Volume radang telapak kaki belakang tikus pada jam ke 3

Perlakuan	Volume radang (ml), ulangan ke					Jmh	Rata-rata±SD
	1	2	3	4	5		
CMC Na 1% 2 ml/200 g	0,52	0,51	0,55	0,49	0,57	2,64	0,53±0,03
Kontrol Asetosal mg/kg BB	0,42	0,41	0,44	0,32	0,33	1,92	0,38±0,06
Ekstrak etanol 102 mg/kg bb	0,36	0,42	0,47	0,43	0,46	2,14	0,43±0,04
Fraksi n-heksana 102 mg/kg bb	0,45	0,36	0,41	0,34	0,37	1,93	0,39±0,04
Fraksi etil asetat 102 mg/kgbb	0,44	0,36	0,41	0,34	0,37	1,92	0,38±0,04
Fraksi etanol 102 mg/kgbb	0,47	0,41	0,35	0,31	0,26	1,80	0,36±0,08

Pada kelompok plasebo, injeksi karagenin menghasilkan edema yang terus meningkat dari menit ke 30 sampai menit ke 60 (Tabel 2). Karagenin akan menginduksi

cedera sel sehingga sel yang cedera melepaskan mediator yang mengawali proses inflamasi. Edema oleh karagenin tergantung pada peran kinin, leukosit polimorfonuklear, dan mediator-mediator inflamasi yang dilepaskan seperti PGE1, PGE2, dan PGA (Amanlou *et al.*, 2005). Menurut Tumbach *et al.*, (2002) pemberian karagenin subplantar akan meningkatkan kadar COX-2.

Tabel 2. Data rata-rata prosentase radang telapak kaki belakang tikus yang diinduksi karagen

Waktu (menit)	Persentase Radang (%)					
	CMC Na	Asetosal	Ekstrak etanol	Fraksi n- heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol
30	23,66	15,49	21,40	17,65	13,60	21,56
60	45,91	25,02	36,85	34,53	24,37	38,56
120	66,97	37,37	48,99	50,70	36,79	52,79
180	77,92	16,34	31,46	37,41	23,64	34,54

Prosentase radang yang ditimbulkan oleh injeksi karagenin pada kelompok perlakuan lebih kecil daripada kelompok plasebo begitu juga pada kelompok kontrol positif (asetosal). Prosentase radang maksimal pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif dicapai pada menit ke 120.

Tabel 3. Rata-rata reduksi radang setelah 3 jam perlakuan

Perlakuan	Reduksi Radang (%)
CMC Na	00,00 ± 00,00
Asetosal 10 mg/kg bb	76,60 ± 4,32 ^a
Ekstrak Etanol 102 mg/kg bb	56,57 ± 3,19 ^b
Fraksi n-heksana 102 mg/kg bb	54,71 ± 5,51 ^b
Fraksi etil asetat 102 mg/ kg bb	65,39 ± 5,47 ^c
Fraksi etanol 102 mg/kg bb	62,55 ± 2,87 ^c

**Oneway ANOVA* diikuti uji LSD, $p < 0,05$, perbedaan huruf menunjukkan perbedaan signifikan.

Kemampuan suatu bahan dalam mengurangi radang pada kaki hewan uji akibat injeksi karagenin dinyatakan sebagai daya antiinflamasi. Daya antiinflamasi yang dimiliki oleh kelompok kontrol positif dan ekstrak etanol sarang semut dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi etanol dosis 102 mg/kg bb menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan kelompok plasebo. Semua kelompok perlakuan juga mempunyai daya antiinflamasi yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif (asetosal). Semua kelompok perlakuan mempunyai daya antiinflamasi namun tidak ada yang yang seefektif kontrol positif, namun dari ekstrak dan fraksi yang digunakan dalam pengujian fraksi etil asetat dan fraksi etanol sarang semut layak dilakukan penelitian lebih lanjut dengan variasi dosis dan isolasi zat aktifnya.

Penggunaan dosis 102 mg/kg bb diperoleh dari penggunaan secara empiris pada manusia yaitu sebesar 20 serbuk kering perminggu atau 2,86 g serbuk kering/hari (Hendarsula, 2011). Penyesuaian dosis manusia ke tikus dengan memperhitungkan faktor konversi dari manusia ke tikus yaitu sebesar 0,018 dan rendemen yang diperoleh saat ekstraksi. Dosis dibuat sama untuk membandingkan aktivitas ekstrak dan fraksi-fraksinya.

Dari hasil penapisan fitokimia diketahui tanaman sarang semut mengandung golongan senyawa kimia flavonoid dan tanin (Subroto dan Saputro, 2006) alkaloid dan terpenoid serta golongan fenolik (Hertiani *et al.*, 2010). Senyawa-senyawa yang kemungkinan bertanggung jawab sebagai antiinflamasi adalah flavonoid dan tanin. Flavonoid berperan penting dalam menjaga permeabilitas serta meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler. Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi melalui dua cara yaitu dengan menurunkan permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel netrofil dan sel endotelial (Kurniawati, 2005). Flavonoid terutama bekerja pada endotelium mikrovaskuler untuk mengurangi terjadinya hipermeabilitas dan edema (Sabir, 2003). Flavonoid diketahui memiliki kemampuan untuk melindungi struktur sel, sebagai antioksidan, dan antiinflamasi (Subroto, 2006). Selain flavonoid, kandungan polifenol juga diketahui dapat menghambat lipooksigenase, yang berkaitan erat dengan mekanisme terjadinya inflamasi (Robinson, 1991). Tanin juga mempunyai aktivitas antiinflamasi, namun mekanismenya belum bisa dijelaskan (Khanbabae dan Ree, 2001).

IV. KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% sarang semut, fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi etanol dari ekstrak etanolik sarang semut dosis 102 mg/kg bb mempunyai aktivitas antiinflamasi namun masih dibawah aktivitas antiinflamasi kontrol asetosal dosis 10 mg/kg bb. Fraksi etil asetat dan fraksi etanol dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai variasi dosis dan isolasi senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antiinflamasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada DIKTI melalui lembaga Penelitian Universitas Jember yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanlou, M.F., Dadkhah, A., Salehnia, H., Farsam, & Dehpour, A.R., 2005. An antiinflammatory and Anti nociceptive Effects of Hydroalcoholic Extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad Extract. *Journal Pharmacology and Pharmaceutical Science*, Vol 8(1): 102-106
- Chakraborty, A. R. K. B., Devi, S., Rita, K.H., Sharatachandra, T.H., & Sing, I. 2004. Preliminary Studies on Antiinflammatory and Analgesic Activities of *Spilanthes acmella* in Experimental Animal Models. *Indian Journal Pharmacology*, Vol 36 (3): 148-150
- Djafar, W., 2010, Uji Efek Anitinflamasi Umbi Sarang Semut Pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Hendarsula, R.A.,2011. Efek Imunostimulan Ekstrak Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia archboldiana*) pada Tikus Putih Jantan.Skripsi. Departemen Farmasi MIPA UI
- Hertiani, T., Sasmito, E., Sumardi, & Ulfah, M. 2010. Preliminary Study on Immunomodulatory of Sarang Semut Tubers *Myrcodia tuberosa* and *Myrcodia pendens*.*Online Journal of Biological Sciences*. Vol 10(3): 136-141
- Khanbabae, K., & Ree,T. V., 2001, Tannins: Classification and Definition. *Nat Prod Rep*, 18:641-49
- Kurniawati. 2005. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Metanol *Graptophillum griff* pada Tikus Putih. *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV*, 11-13 Agustus 2005, 167-170

- Logeswari, P., Dineshkumar, V., Kumar., S. M. P., & Usha, P. T. A., 2013. In-vivo Antiinflammatory Effect of Aqueous and Ethanolic Extract of *Sida rhombifolia* L. Root. IJPSR , Vol 4(1):326-321
- Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C., & Fisher, B.D., 2001, Farmakologi Ulasan Bergambar, ed.2. Widya Medika. Jakarta. Hal. 418- 419.
- Robinson T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung; Institut Teknologi Bandung; 1995.hal. 192
- Sabir. 2010. Pemanfaatan flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. Majalah kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III. 6-9 Agustus 2003: 81-83
- Simanjuntak, F. & Subroto M. A., 2010, Isolasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Hipokotil Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) sebagai Penghambat Xantin oksidase. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol.8 No.1. April 2010. Hal 49-54.
- Subroto, M. A. & Saputro, H. 2006. Gempur Penyakit dengan Sarang Semut. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 27.
- Tayeb, R., Amelia V., & Usmar, 2012, Pengaruh Pemberian Infus Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) terhadap Kadar Asam Urat Darah pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*), Majalah Farmasi dan Farmakologi, Vol 16 (1): hal 31-36.
- Tumbach, M. E., Spraggins, D. S., & Randich. 2002. Spinal Administration of Prostaglandin E2 or Prostaglandin F2 α Primarily Produces Mechanical Hyperalgesia That is Mediated by Nociceptive Specific Spinal Dorsal Horn Neuron. Pain. 97 : 33-45

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica L*) SEDIAAN GEL DAN SPRAY ANTISEPTIK

Dwi Nurahmanto, Edwin Tanjaya, Hawwin Elina Arizka, Siti Uswatun Hasanah
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: dwinurahmanto.farmasi@unej.ac.id

Abstrak

Antiseptik merupakan zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh. Kandungan flavonoid dalam tanaman beluntas, menjadikannya berpotensi sebagai bahan antimikroba. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antimikroba pucuk daun dan daun tua pada daun beluntas (*Pluchea indica L*) yang dibuat dalam bentuk sediaan gel dan spray. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Konsentrasi optimum ekstrak yang digunakan adalah 15% berdasarkan diameter zona hambat. Sediaan gel dibuat dengan basis karbomer sedangkan sediaan spray dibuat dengan pelarut campuran air dan alkohol. Gel dan spray disimpan dalam suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan suhu 4°C untuk pengujian stabilitas. Evaluasi stabilitas meliputi organoleptis, homogenitas, daya sebar, pH, dan viskositas. Hasil menunjukkan bahwa sediaan lebih stabil disimpan pada suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$. Berdasarkan diameter hambatnya, aktivitas antimikroba sediaan gel lebih besar dibandingkan dengan sediaan spray.

Kata Kunci: daun beluntas, antimikroba, spray, gel

I. PENDAHULUAN

Memelihara kebersihan tangan merupakan salah satu cara untuk menjaga kesehatan tubuh. Infeksi dari berbagai penyakit, sebagian besar terjadi akibat kemalasan dalam menjaga kebersihan tangan. Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya infeksi melalui tangan yaitu dengan pemakaian antiseptik sebagai pengganti sabun dan air yang dinilai tidak praktis dalam pemakaiannya. Antiseptik merupakan zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh (Isadiartuti & Sari, 2005).

Antiseptik memerlukan bahan aktif yang memiliki aktivitas antimikroba dalam pembuatannya. Salah satu tanaman asli Indonesia yang tersebar dengan luas di beberapa daerah di Indonesia serta berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antimikroba adalah tanaman beluntas (*Pluchea indica L*). Kandungan dari beluntas yaitu alkaloid,

flavonoid, minyak atsiri, asam klorogenik, natrium, kalsium, magnesium dan fosfor (Agoes, 2010). Kandungan bahan aktif pada daunbeluntas tidak hanya efektif untuk bakteri gram negatif dan positif (Ardiansyah *et al.*, 2003; Manu, 2013) namun juga efektif untuk bakteri nosokomial seperti *Pseudomonas aeruginosa* Multi Resistant dan Methicillin Resistant *Stapylococcus aureus* (Sulistyaningsih, 2009). Daun beluntas (*Pluchea indica L*) memiliki potensi sebagai antimikrobakarena adanya senyawa fenol terutama flavonoid.

Salah satu sediaan untuk antiseptic adalah gel dan spray. Gel merupakan system semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organic yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan (Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Bentuk gel mempunyai beberapa keuntungan diantaranya tidak lengket, gel mempunyai aliran tiksotropik dan pseudoplastik yaitu gel berbentuk padat apabila disimpan dan akan segera mencair bila dikocok, konsentrasi bahan pembentuk gel yang dibutuhkan hanya sedikit untuk membentuk massa gel yang baik, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan. Sediaan spray merupakan sediaan larutan yang dimasukkan dalam sebuah alat sprayer sehingga pemakaiannya dengan cara disemprot. Larutan adalah campuran homogen dari dua atau lebih macam zat yang terdiri dari zat yang terlarut (solute) dan zat pelarut (solven) (Marzuki *et al.*, 2010).

Aktivitas antimikroba daun beluntas telah banyak diteliti namun belum terdapat penelitian mengenai perbandingan aktivitas antimikroba daun beluntas dalam bentuk sediaan berupa gel dan spray. Lebih jauh, belum terdapat penelitian terkait dengan perbedaan aktivitas antimikroba antara pucuk daun dan daun tua dari daun beluntas (*Pluchea indica L*). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui perbandingan aktivitas antimikroba pucuk daun dan daun tua pada daun beluntas (*Pluchea indica L*) yang dibuat dalam bentuk sediaan gel dan spray.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Timbangan (Pioneer), viskometer, autoklaf, sentrifuge (Hettich EBA20S), alat gelas (Pyrex). Etanol, air suling, karbomer, larutan NaOH 20%, larutan nipagin, aquadest

larutan natrium askorbat, propilen glikol, norit, corigen odoris, nutrien agar (NA), bakteri uji *Bacillus subtilis*, *S. Epidermitis*, *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*, larutan NaCl fisiologis, dan kertas saring.

B. Pembuatan Ekstrak

Daun beluntas dikumpulkan dengan mengambil bagian daun muda dan daun tua, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena matahari secara langsung selama beberapa hari lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk dan diayak dengan menggunakan pengayak mesh 30 hingga diperoleh serbuk daun kering. Daun beluntas yangtelah diserbuk ditimbang sebanyak 250 gram, dimasukkan ke dalam wadah kemudian ditambahkan etanol 80% sampai terendam dan diaduk dengan pengaduk kinetik selama 1 jam kemudian ditampung dalam wadah bersih dan ampas I ditambah etanol 80% lagi, diaduk dengan pengaduk kinetik selama 1 jam kemudian didiamkan semalam. Setelah itu ekstrak disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat II. Selanjutnya proses yang sama dilakukan hingga diperoleh filtrat III. Seluruh filtrat yang diperoleh dari proses maserasi I, II, dan III digabung

C. Pembuatan sediaan gel dan spray

Pembuatan gel dimulai dengan mendispersikan basis karbomer pada air kemudian ditambahkan NaOH untuk menetralsir dan diaduk hingga homogen. Ekstrak digerus dalam mortir tadi dan diaduk sampai homogen. Larutan nipagin-nipasol dalam propilen glikol dimasukkan dalam campuran dan diaduk homogen. Tambahkan aquadest sampai bobot 30 g.

Pembuatan spray dimulai dengan membuat campuran air dan etanol 50% (2:1) untuk melarutkan ekstrak di dalamnya. Kemudian ekstrak disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan larutan yang jernih.

Gel dan spray disimpan dalam suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan 4°C untuk menguji stabilitasnya. Uji stabilitas meliputi organoleptis, viskositas, daya sebar, pH dan konsistensi. Pengujian dilakukan setiap 7 hari selama 28 hari untuk daya sebar, ph dan viskositas sedangkan untuk organoleptis dan homogenitas selama 56 hari. Uji konsistensi hanya dilakukan pada hari ke-0.

D. Uji Antimikroba

Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah Nutrien Agar (NA) yang dibuat dengan menimbang 8,4 gram Nutrien Agar dan dilarutkan dalam 300 ml air suling. Campuran dididihkan diatas hotplate sampai warna menjadi jernih. Siapkan cawan petri dan tabung reaksi. Tuang 10 ml medium NA ke dalam tabung reaksi dan sumbat semua tabung reaksi dengan kapas. Sterilkan dalam autoklaf pada 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Medium Agar Cawan

Setelah dikeluarkan dari autoklaf, letakkanlah tabung-tabung reaksi yang memuat 10 ml medium ke dalam penangas air bersuhu 50°C. dan biarkan selama 5 menit. Ambillah tabung yang berisi 10 ml medium dan tuangkan satu per satu ke dalam cawan petri steril secara aseptik. Pastikan seluruh permukaan cawan tertutup rata oleh medium. Biarkan medium tersebut menjadi dingin dan memadat. Tunggulah selama 24 jam. Apabila medium tetap bersih dan tidak ditumbuhi bakteri atau jamur maka medium tersebut bisa dipakai.

Persiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yakni *Bacillus subtilis*, *S. epidermitis*, *E.coli* dan *Staphylococcus aureus* dibiakkan pada agar miring selama 18-24 jam pada suhu 37°C kemudian disuspensikan dalam tabung steril yang berisi NaCl fisiologis.

Pengujian aktivitas antibakteri

Siapkan inokulum bakteri *Bacillus subtilis*, *S. Epidermitis*, *E.coli* dan *Staphylococcus aureus* dan medium NA. Buat sumuran pada lempeng agar masing-masing 5 sumuran untuk tiap cawan petri. Inokulasikan bakteri pada lempeng agar secara merata. Kemudian bahan yang akan diuji dipipet ke dalam sumur. Kontrol negatif yang digunakan adalah sediaan yang diformulaiskan tanpa ekstrak daun beluntas. Sedangkan kontrol positif adalah sediaan antiseptik yang terdapat dipasaran (mengandung bahan aktif 60%) sebanyak 5 g. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat yang terbentuk dan diukur dengan jangka sorong.

E. Analisis data

Data yang diperoleh diolah dengan program computer *SPSS for Windows*. Karena jumlah sampel <50 maka diuji normalitasnya dengan uji analitik Saphirowilk. Untuk uji

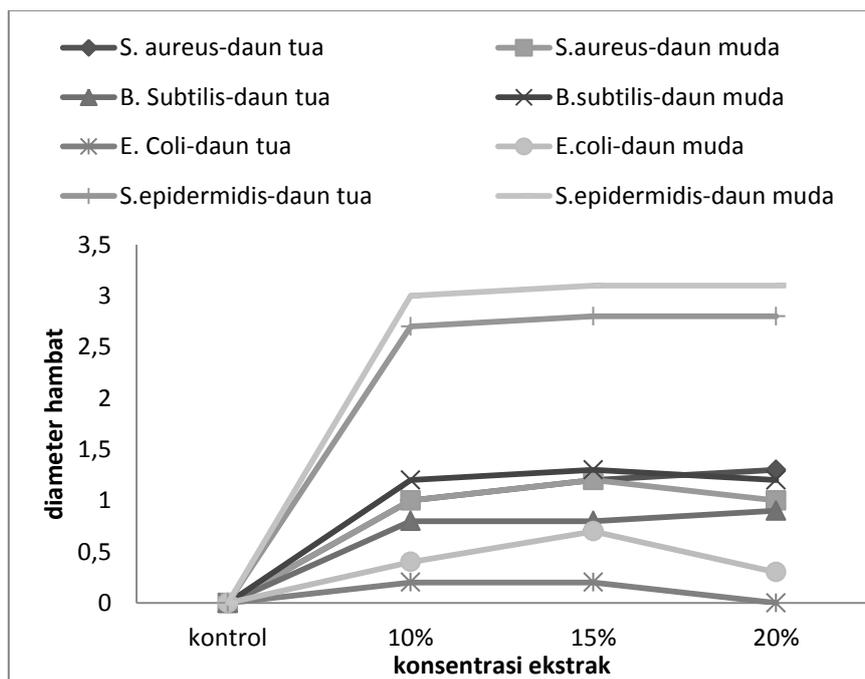
beda antar kelompok perlakuan dianalisis dengan uji *one Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan Post Hoc LSD dengan ketentuan jika $p < 0,05$, maka ada perbedaan yang bermakna.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Aktivitas Antimikroba

Daya antimikroba dinyatakan dengan nilai diameter hambat yaitu konsentrasi terendah dari suatu komponen antimikroba dimana tidak terjadi pertumbuhan mikroba pada masa inkubasi 24 jam (Ardiansyah, Nuraida, & Andarwulan, 2003).

Gambar 1 menunjukkan bahwa nilai diameter hambat ekstrak daun muda dan tua berbeda untuk setiap bakteri. Nilai diameter hambat ekstrak daun tua berkisar antara 0,2 – 2,8 cm sedangkan untuk ekstrak daun muda memiliki rentang 0,4 – 3,1 cm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun muda memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang lebih baik dibandingkan ekstrak daun tua.



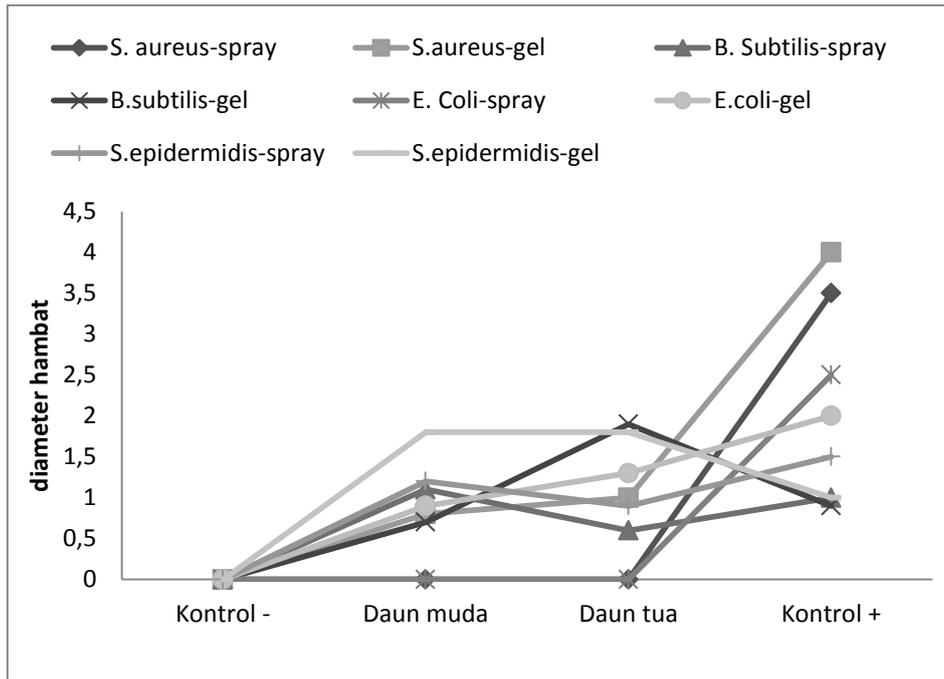
Gambar 1. Diameter hambat ekstrak daun beluntas

Hasil uji ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) daun muda dan daun tua terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* dan *S. epidermitis* memberikan diameter rata-rata terbesar terhadap *S. epidermitis* yakni 2,8 cm pada ekstrak daun tua konsentrasi 15% dan

20% serta 3,1 cm untuk ekstrak daun muda pada konsentrasi 15% dan 20%. Sedangkan diameter hambatan terkecil terhadap *E.coli* pada konsentrasi 20% sebesar 0 cm dan ekstrak daun muda sebesar 0,3 cm pada konsentrasi 20%.

Adanya perbedaan hasil uji daya hambat pada bakteri gram positif dan gram negatif dapat dihubungkan melalui perbedaan dinding sel bakteri. Berdasarkan data, *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri uji dengan diameter hambat paling besar. Dimana, *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang umumnya lebih peka terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan gram negatif karena dinding sel bakteri gram positif tidak memiliki lapisan lipopolisakarida sehingga senyawa antimikroba yang bersifat maupun hidrofobik dapat melewati dinding sel bakteri gram positif melalui mekanisme difusi pasif kemudian berinteraksi langsung dengan peptidoglikan pada sel bakteri yang sedang tumbuh dan menyebabkan kematian sel (Manu, 2013).

Pengujian aktivitas antimikroba sediaan gel dan *spray* dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan mekanisme penghambatan antimikroba antara dua bentuk sediaan tersebut (Gambar 2). Hasil pengujian sediaan gel ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) daun muda dan daun tua terhadap *S.aureus*, *B.subtilis*, *E.coli* dan *S.epidermitis* memberikan diameter terbesar terhadap *B.subtilis* yakni 1,9 cm untuk sediaan gel daun tua dan diameter hambatan terkecil terhadap *B.subtilis* sebesar 0,7 cm untuk sediaan gel daun muda. Sedangkan untuk sediaan *spray* diameter hambat terbesar adalah terhadap *S.epidermidis* untuk sediaan yang mengandung daun muda dengan diameter hambat 1,2 cm dan untuk diameter hambat terkecil sebesar 0 cm terhadap *S. aureus* baik pada sediaan yang mengandung daun tua dan daun muda. Diameter hambat 0 cm juga dihasilkan pada sediaan *spray* terhadap bakteri *E.coli* untuk sediaan yang mengandung daun muda dan daun tua. Aktivitas antimikroba antara sediaan gel lebih besar dibandingkan dengan sediaan *spray* karena pada pembuatan sediaan *spray* disaring terlebih dahulu sebelum dilakukan pengujian. Hal ini dapat mengakibatkan senyawa aktif ikut tersaring sehingga mengurangi aktivitas antimikroba.



Gambar2. Diameter hambat sediaan gel dan spray

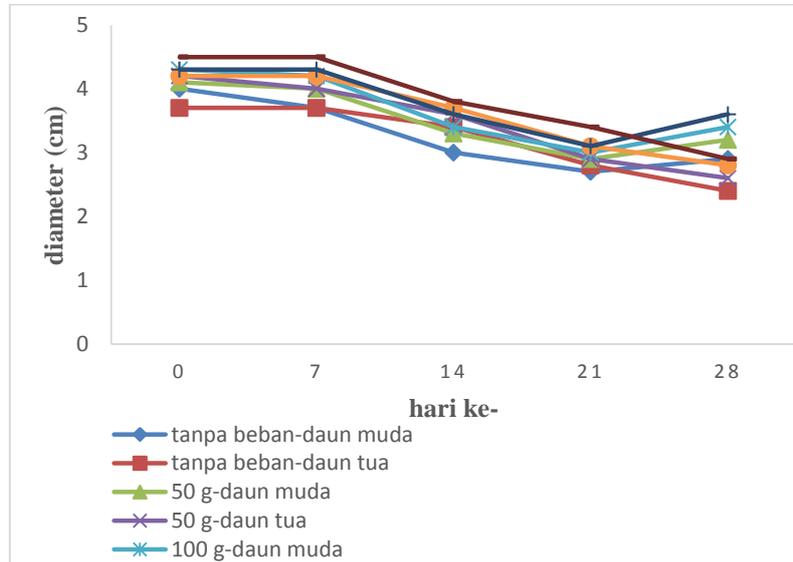
B. Stabilitas Fisika dan Kimia dari Sediaan

Pengamatan stabilitas berdasarkan organoleptis dari daun muda dan daun tua pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ tidak mengalami perubahan yang signifikan dibandingkan pada suhu 4°C . Ini kemungkinan karena basis yang digunakan adalah karbopol. Di mana karbopol bersifat higroskopis. Karena gel mengandung banyak air dan ditambah dengan suhu rendah yang menghasilkan uap air sehingga karbopol banyak menyerap air dan menghasilkan gel yang berair. Sedangkan pada spray tidak mengalami perbedaan yang signifikan. Ini dikarenakan bahan-bahan yang digunakan pada sediaan tidak terpengaruh oleh suhu.

Sediaan gel daun muda homogen sedangkan sediaan daun tua. Ini dikarenakan ekstrak dari daun tua lebih padat dan keras dibandingkan daun muda sehingga sulit untuk menghomogenkan. Sedangkan pada sediaan spray kedua jenis daun menunjukkan hasil yang homogen. Ini terlihat sediaan spray menghasilkan larutan yang jernih.

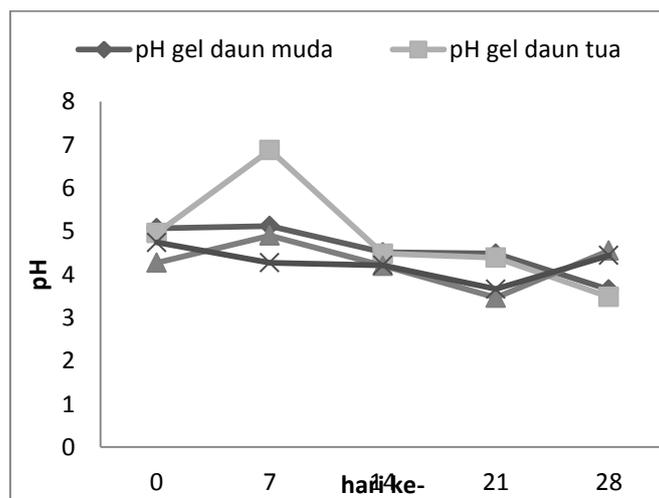
Uji daya sebar hanya dilakukan untuk sediaan yang disimpan pada suhu ruang. Dari gambar 4 dapat dilihat bahwasannya semakin lama penyimpanan, daya sebar dari semua sediaan semakin kecil. daya sebar sediaan ini masih belum memenuhi persyaratan yaitu

5-7 cm (Garg *et al.*, 2002). Ini dikarenakan gel menggunakan basis carbopol. Basis ini menghasilkan viskositas yang tinggi ketika dinetralkan sehingga penyebarannya kurang baik.



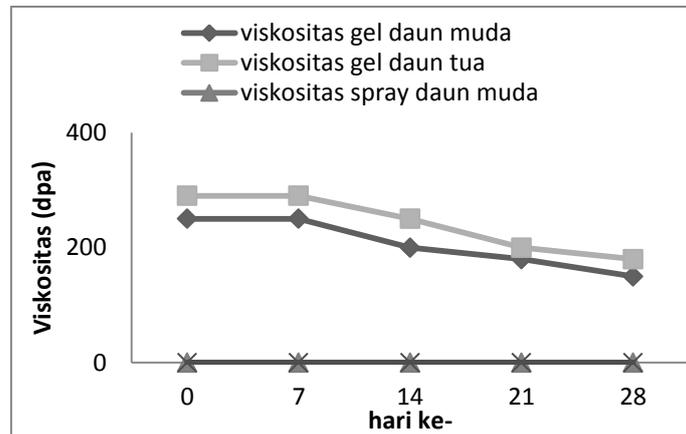
Gambar 3. Daya sebar sediaan gel

Uji pH dan viskositas juga hanya dilakukan untuk sediaan yang disimpan pada suhu kamar. PH dari sediaan masih memenuhi kriteria pH kulityaitudalam interval 4,5 – 6,5(Tranggono & Latifah., 2007). Tetapi terjadi penurunan pH dalam penyimpanan (Gambar 4). Ini kemungkinan karena adanya pengaruh dari bahan-bahan yang digunakan.



Gambar 4. pH sediaan gel dan spray

Dari Gambar5 dapat diketahui bahwasannya terjadi penurunan viskositas seiring dengan lamanya waktu penyimpanan di mana pada hari ke-14 dan seterusnya, viskositas tidak memenuhi kriteria. Ini dikarenakan adanya perubahan pH yang terjadi pada sediaan. Makin tinggi nilai viskositasnya maka makin susah obat dioleskan pada kulit, makin rendah nilai viskositas makin mudah obat digunakan.



Gambar 5. Viskositas sediaan gel dan spray

Secara statistik dengan uji One way ANOVA, perubahan pada daya sebar, viskositas dan pH formula ini tidak signifikan perbedaannya. Ini dapat dilihat dari nilai p masing-masing uji yang lebih dari 0.05. Oleh karena itu setiap formula masih dapat dikatakan stabil.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan diameter hambat, aktivitas antimikroba ekstrak sediaan gel lebih besar dibandingkan dengan sediaan spray di mana paling efektif pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji stabilitas, sediaan yang disimpan pada suhu kamar lebih stabil dibandingkan dengan sediaan pada suhu dingin.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes. 2010. Tanaman Obat Indonesia.

Ardiansyah, Nuraida, L., & Andarwulan, N. 2003. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) dan Stabilitas Aktivitasnya pada Berbagai Konsentrasi Garam dan Tingkat pH. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, XIV(2), 90-97.

Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis

- Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. Farmakope Indonesia(4th ed.). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., & Sigla, A. K. 2002. Spreading of Semisolid Formulation. *An Update Pharmaceutical Technology*, 84-102.
- Isdiartuti, D. & R. Sari. 2005. Uji Efektifitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan yang Mengandung Etanol dan Triklosan. *Majalah Farmasi Airlangga*.
- Manu. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, II.
- Marzuki, Amirullah, & Fitriana. 2010. *Kimia dalam Keperawatan*. Sulawesi Selatan: Pustaka As Salam.
- Sulistyaningsih. 2009. Potensi Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.) sebagai inhibitor terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Multi Resistant dan Methicillin Resistant *Stapylococcus aureus*. Laporan Penelitian Mandiri.
- Tranggono, R. I., & Latifah., F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: PT. Gramedia.

UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK TEH HITAM, TEH OOLONG, DAN TEH HIJAU SECARA IN VIVO

Diana Holidah, Fransiska Maria Christianty
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: dien_holy@yahoo.com

Abstrak

Prevalensi penderita Diabetes Melitus (DM) di Indonesiasebesar 4,6% dan diperkirakan akan terus meningkat. Menurut perkiraan WHO, jumlah penderita DM di Indonesia akan menempati peringkat nomor empat di dunia di bawah India, China dan Amerika serikat. Pengobatan diabetes yang berlangsung dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan timbulnya resistensi terhadap obat-obat tertentu, karena itu perlu dikembangkan obat-obat antidiabetes yang baru dengan mekanisme kerja yang lebih baik. Penelitian ini bertujuan membandingkan aktivitas antidiabetes ekstrak teh hitam, teh oolong dan teh hijausecarain *in vivo* menggunakan mencit diabetes akibat induksi aloksan. Mencit yang menderita diabetes diberikan suspensi ekstrak teh hitam, teh oolong dan teh hijau satu kali sehari selama 14 hari. Kadar glukosa darah diukur pada hari ke-0 dan ke-15 setelah perlakuan. Hasil pengukuran glukosa darah menunjukkan ekstrak teh hijau memiliki kemampuan menurunkan kadar glukosa darah sebesar 59,69%, paling besardibandingkan ekstrak teh lainnya.

Kata Kunci: teh hitam, teh oolong, teh hijau, diabetes, kadar glukosa darah

I. PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu kelainan metabolik yang bersifat kronik dimana terjadi peningkatan kadar glukosa dalam darah sebagai akibat kurangnya jumlah insulin, kerja insulin maupun keduanya. Menurut Diabetes Atlas 2000 (*International Diabetes Federation*) 4,6% atau 5,6 juta jiwa penduduk Indonesia menderita DM dan diperkirakan pada tahun 2020 nanti akan ada 8,2 juta penderita DM (Pranoto, 2003). Menurut perkiraan WHO, pada tahun 2030 Indonesia akan menempati peringkat nomor 4 di dunia di bawah India, China dan Amerika serikat, dengan jumlah pengidap DM sebanyak 21,3 juta jiwa (Wild *et al.*, 2004). Jumlah penderita diabetes terus meningkat dari tahun ke tahun mengikuti gaya hidup dan tingkat obesitas yang semakin tinggi. Obat antidiabetes digunakan seumur hidup, akibatnya biaya pelayanan kesehatan yang dikeluarkan menjadi sangat besar. Biaya ini akan semakin tinggi bila disertai komplikasi dengan penyakit lain.

Penggunaan teh sebagai antidiabetes sudah dilakukan sejak dulu dan banyak hasil penelitian yang mendukung. Berdasarkan cara pengolahannya terdapat tiga jenis teh yaitu teh hitam, teh oolong dan teh hijau. Penelitian pendahuluan pada ketiga jenis teh tersebut menunjukkan aktivitas antidiabetes. Ekstrak air teh diketahui memiliki aktivitas menurunkan kadar glukosa darah mencit diabetes karena induksi streptozotocin (STZ). Ekstrak air panas teh hitam juga menunjukkan kemampuan menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi STZ (Gomes *et al*, 1995; Broadhurst *etal*, 2000). Pemberian teh oolong pada pasien diabetes akan menurunkan glukosa darah secara signifikan (Hosoda *et al*, 2003) demikian juga dengan pemberian ekstrak teh hitam dan teh hijau (MacKenzie *et al.*, 2007). Penelitian dengan menggunakan teh hijau juga menunjukkan aktivitas antidiabetes (Wu *et al.*, 2004). Penelitian *in vitro* menunjukkan katekin dan theaflavin dalam teh dapat mencegah hiperglikemik dengan cara meningkatkan aktivitas insulin dan kemungkinan juga dengan mencegah kerusakan sel β pankreas karena senyawa dalam teh juga bersifat antioksidan yang dapat mencegah reaksi oksidatif ROS di pankreas (Anderson and Polansky, 2002). Jika dilihat dari mekanisme aksi teh dalam menurunkan kadar glukosa darah, maka teh akan bekerja pada dua target terapi diabetes yaitu di pankreas dan di organ target glukosa yaitu otot, hepar dan sel lemak sehingga diharapkan akan lebih efektif sebagai antidiabetes.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat yang Digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh hitam dan teh hijau produksi PT Perkebunan Nusantara XII. Teh oolong produksi Well Tea. Aloksan dan Metformin dari Sigma. Alat yang digunakan adalah Fotometer (Biolyzer).

B. Metode Penelitian

1) Pembuatan Ekstrak Teh

Sebanyak 100 g serbuk teh (teh hitam, teh oolong, teh hijau) ditambahkan 1 liter air mendidih, didiamkan selama 15 menit kemudian dibiarkan agar menjadi dingin. Cairan kemudian dikeringkan dengan menggunakan *freeze drier* hingga terbentuk ekstrak kering.

2) Analisis kadar total polifenol (Metode Follin-Ciocalteu)

Analisis kadar total polifenol dilakukan dengan cara menyeduh sampel sebanyak 0,25 g dengan air yang bersuhu 50°C selama 5-6 menit, kemudian disaring dan disentrifugasi selama 5 menit. Diambil 0,1 ml filtrat dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml etanol, 5 ml aquadest, dan 0,5 ml pereaksi Follin-Ciocalteu, diamkan selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 1 ml larutan Na₂CO₃ 5% dan di vortek. Sampel kemudian dimaserasi pada tempat gelap selama 1 jam. Setelah 1 jam, di vortek kembali dan diukur absorbansinya pada λ 760 nm. Perhitungan total polifenol dalam mg/gr sampel, dengan terlebih dahulu membuat kurva standar dari asam galat pada berbagai konsentrasi.

3) Membuat model DM pada mencit

Mencit jantan galur balB/C berumur 8 minggu ditempatkan secara berkelompok (5 ekor tiap kelompok) dalam kandang. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman dijaga dalam jumlah yang cukup. Setelah 1 minggu adaptasi, mencit diinjeksi secara intraperitoneal dengan aloksan 210 mg/kg berat badan untuk menginduksi DM. Pada hari ke-3 Kadar glukosa darah dievaluasi menggunakan *glukometer rapid test*.

4) Pengujian aktivitas ekstrak teh dalam menurunkan kadar glukosa darah pada keadaan DM

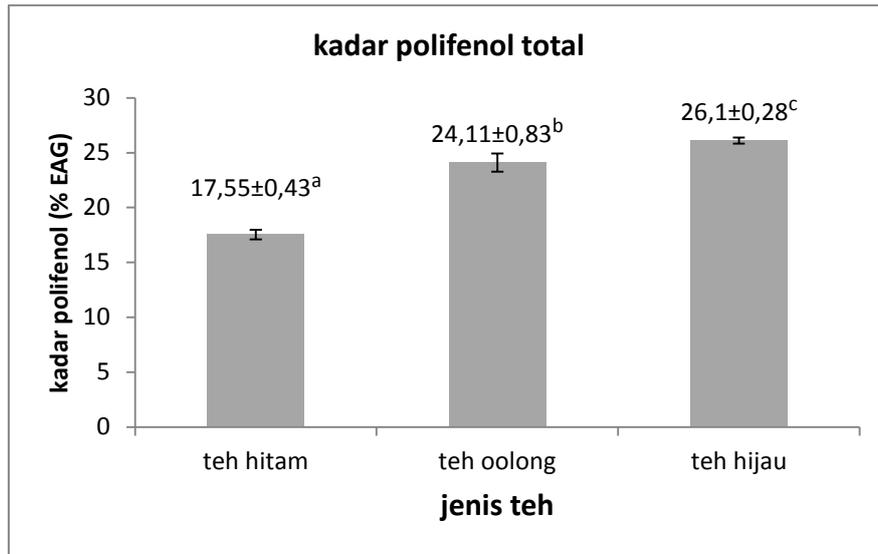
Setelah mencit menderita DM (kadar glukosa darah \geq 200 mg/dL), diberikan suspensi ekstrak teh dosis 600 mg/KgBB sekali selama 14 hari secara per oral. Penurunan glukosa darah diukur pada hari ke-15 menggunakan Fotometer.

C. Analisis Data

Data kadar polifenol total maupun data penurunan kadar glukosa darah mencit dianalisis menggunakan *one way ANOVA*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi daun teh menggunakan pelarut air, ekstrak yang dihasilkan kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Ekstrak kering masing-masing teh kemudian diukur kadar polifenol total menggunakan pereaksi Follin-Ciocalteu. Hasil pengukuran kadar polifenol total masing-masing ekstrak teh dapat dilihat pada Gambar 1.

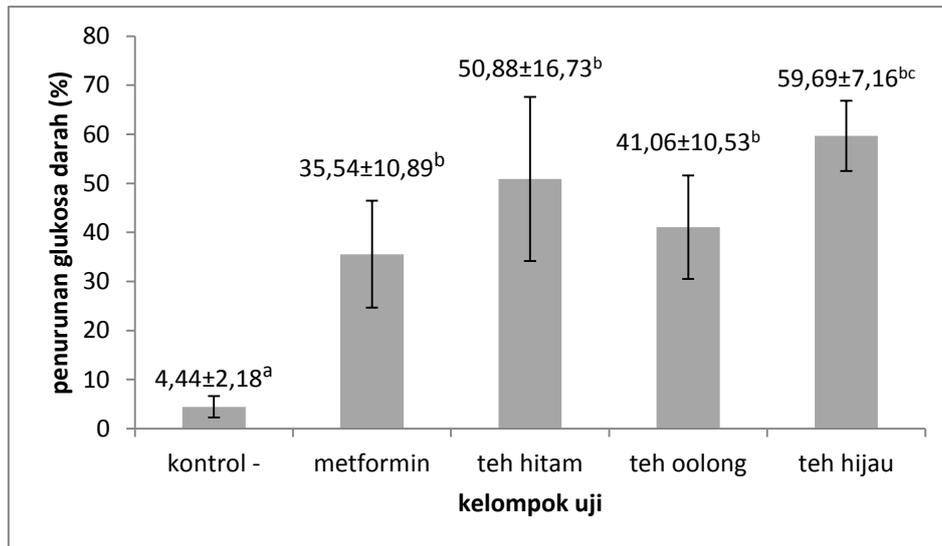


Gambar 1. Grafik kadar polifenol total ekstrak teh

Berdasarkan data tersebut diperoleh hasil teh hijau memiliki kandungan polifenol total paling tinggi jika dibandingkan dengan teh oolong dan teh hitam, kemudian diikuti teh oolong dan kandungan polifenol paling rendah terdapat pada teh hitam. Teh banyak mengandung polifenol flavonoid yang bersifat antioksidan seperti katekin, flavonol, theaflavin dan thearubigin. Perbedaan metode pengolahan pada masing-masing teh menyebabkan kandungan kimia yang berbeda pula. Selama proses pengolahan teh hitam, polifenol oksidase akan mengoksidasi katekin menjadi theaflavin dan thearubigin. Kandungan katekin pada teh hijau mencapai 80-90% dan flavonol mencapai 10% dari flavonoid total. Sementara kandungan katekin pada teh hitam hanya 20-30%, theaflavin 10% dan thearubigin mencapai 50-60% dari flavonoid total (Harbowy & Balentine, 1997; Riemersma *et al.*, 2001).

DM pada mencit diinduksi pemberian aloksan 225 mg/KgBB secara intraperitoneal. Meningkatnya kadar glukosa darah pada pemberian aloksan dapat disebabkan oleh dua proses yaitu terbentuknya radikal bebas dan kerusakan permeabilitas membran sel sehingga terjadi kerusakan sel beta-pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin. Setelah kadar glukosa darah mencit ≥ 200 mg/dL, mencit diberikan ekstrak teh 600 mg/KgBB satu kali sehari selama 14 hari. Pada hari ke-15 kadar glukosa darah mencit diukur dan dibandingkan dengan kadar glukosa darah pada hari ke-0. Berdasarkan grafik pada Gambar 2, dapat dilihat penurunan glukosa darah terbesar terjadi pada kelompok yang diberikan perlakuan teh hijau. Kemungkinan hasil tersebut berkaitan

dengan hasil pengukuran kadar polifenol total. Teh hijau banyak mengandung senyawa polifenol seperti katekin maupun flavonol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan sehingga mampu menurunkan glukosa darah mencit DM. Penurunan glukosa darah pada mencit dengan perlakuan ekstrak teh hitam lebih besar daripada teh oolong tetapi tidak signifikan.



Gambar 2. Grafik Penurunan glukosa darah

Beberapa studi sebelumnya melaporkan efek penurunan glukosa darah diakibatkan kandungan senyawa polifenol, katekin dan fraksi polisakarida larut air lainnya (Shimizu *et al.*, 2000; Sabu *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2007).

Diduga, penggunaan teh akan menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan dengan menghambat aktivitas glucose-6-fosfatase hati sehingga proses glukoneogenesis akan dihambat. Penelitian lain juga menyebutkan mekanisme lain yang kemungkinan bertanggung jawab terhadap efek hipoglikemik ekstrak teh adalah peningkatan *uptake* glukosa, penghambatan sistem GLUT intestinal dan penurunan ekspresi gen yang mengatur proses glukoneogenesis (Waltner-Law, 2002; Babu *et al.*, 2006). Penelitian oleh Anderson & Polansky (2002) juga menyebutkan bahwa teh hijau, teh oolong dan teh hitam secara signifikan meningkatkan aktivitas insulin secara *in vitro*. Komponen aktif utama dalam teh adalah *Epigallocatechin gallate*.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa teh hijau memiliki kandungan total polifenol paling besar dibandingkan teh hitam dan teh oolong serta mampu menurunkan kadar glukosa darah lebih besar dibandingkan teh hitam dan teh oolong.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, R.A, Polansky, M.M, 2002, Tea Enhances Insulin Activity, *J. Agric. FoodChem.* 50:7182-7186
- Babu P.V, Sabitha K.E, Shyamaladevi C.S, 2006, Green Tea Extract Impedes Dyslipidaemia and Development of Cardiac Dysfunction in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Clin ExpPharmacol Physiol* 33, 1184–1189.
- Broadhurst, CL, Polansky M.M, Anderson, R.A, 2000, Insulin-Like Biological Activity of Culinary and Medicinal Plant Aqueous Extract in vitro, *J Agric Food Chem*, 48:849-852
- Gomes A, Vedasiromoni J.R, Das M, 1995, Antihyperglycemic Effect of Black Tea in Rat, *J. Ethnopharmacol*, 45:223-226
- Harbowy M.E, Balentine D.A., 1997, Tea Chemistry. *Crit Rev Plant Sci*, 16, 415–448.
- Hosoda, K, Wang M.F, Liao M.L, 2003, Antihyperglycemic Effect of Oolong Tea in Type 2 Diabetes, *Diabetes Care*, 26:6
- MacKenzie, T., Leary L., Brooks W.B., 2007. The Effect of an Extract of Green and Black Tea on Glucose Control in Adults with Type 2 Diabetes Mellitus: Double Blind Randomized Study, *Metabolism clinical and experimental*, 56:1340-1344
- Pranoto, A., 2003. Konsensus Pengelolaan Diabetes di Indonesia. In: S. Hendromartono, T.H. Pranawa (Eds.). *Symposium Practical Approach in the Management of Diabetic Complications*, hal 1- 3, 28–30
- Riemersma R.A, Rice-Evans C.A, Tyrrell R.M, 2001, Tea Flavonoids and Cardiovascular Health. *QJM*, 94, 277–282.
- Sabu M.C, Smitha K., Kuttan R., 2002, Anti-diabetic Activity of Green Tea Polyphenols and Their Role in Reducing Oxidative Stress in Experimental Diabetes. *J Ethnopharmacol* 83, 109–116.

- Shimizu M, Kobayashi Y, Suzuki M, 2000, Regulation of Intestinal Glucose Transport by Tea Catechins. *Biofactors*, 13,61–65.
- Waltner-Law M.E, Wang X.L, Law B.K, 2002, Epigallocatechin Gallate, a Constituent of Green Tea, Represses Hepatic Glucose Production, *J. BiolChem*, 277, 34933–34940.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004. Global Prevalence of Diabetes. *Diabetes Care*. Vol 27:5 p 1047-1053
- Wu L.Y, Juan C.C, Hwang LS, 2004, Green Tea Supplementation Ameliorates Insulin Resistance and Increase Glucose Transporter IV Content in A Fructose-Fed Rat Model, *Eur J Nutr*, 43:116-124
- Zhou X, Wang D, Sun P, 2007, Effects of Soluble Teapolysaccharides on Hyperglycemia in Alloxan-Diabetic Mice. *J Agric Food Chem* 55, 5523–5528.

RENDAMAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) SEBAGAI PESTISIDA NABATI UNTUK PENGENDALIAN HAMA ULAT GRAYAK (*Spodoptera litura*) PADA TANAMAN CABAI

Prehatin Trirahayu Ningrum, Rahayu Sri Pujiati, Ellyke, Anita Dewi M
Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Jember
Email: Harumfkm@gmail.com

Abstrak

Peningkatan produksi tanaman merupakan salah tujuan dalam program pertanian. Agar tanaman tidak dirusak oleh hama dan penyakit salah satu upaya yang dilakukan adalah dengan menggunakan pestisida. Hewan yang dianggap merugikan bagi petani salah satunya adalah ulat grayak (*Spodoptera litura*) (Djojsumarto, 2008). Dengan adanya hewan yang merugikan tersebut, maka salah satu upaya untuk menggantikan pestisida yang berbahan kimia yaitu dengan menggunakan pestisida organik alami. Pestisida organik yang berasal dari tumbuhan disebut pula dengan pestisida nabati. Contoh tanaman yang dapat digunakan sebagai pestisida yaitu Tanaman pepaya (*Carica papaya*). Budidaya tanaman cabai sekarang semakin meningkat, karena harga jual cabai juga pada musim-musim tertentu mencapai tingkatan yang maksimal, namun hama pengganggu pada tanaman cabai yaitu hama ulat sering merusak daun dan buah cabai itu sendiri. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Desain penelitian ini adalah *True Experimental Design*. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non-factorial yang terdiri dari 3 perlakuan (konsentrasi 2%, 5% dan 10%) dan satu kontrol dengan 6 kali pengulangan untuk masing-masing perlakuan. Sampel penelitian ini menggunakan 24 sampel kelompok dengan masing-masing kelompok diberikan 10 ulat grayak (*Spodoptera litura*). Teknik analisis data dengan deskriptif. Hasil penelitian didapatkan Tidak terdapat ulat yang mati dalam kelompok control, pada kelompok perlakuan konsentrasi 2% rata-rata hasil pengamatan ulat grayak (*Spodoptera litura*) yang mati sebanyak 7 ekor, pada kelompok perlakuan konsentrasi % rata-rata hasil pengamatan ulat grayak (*Spodoptera litura*) yang mati sebanyak 10 ekor, dan pada kelompok perlakuan konsentrasi 10% rata-rata hasil pengamatan ulat grayak (*Spodoptera litura*) yang mati sebanyak 10 ekor. Kesimpulan dari penelitian ini adalah semakin banyak konsentrasi yang diberikan maka akan semakin banyak pula ulat grayak (*Spodoptera litura*) yang tidak bisa bertahan hidup, sehingga pestisida alami dengan menggunakan daun pepaya bisa digunakan.

Kata Kunci: petisida, rendaman daun pepaya, ulat grayak (*Spodoptera litura*)

I. PENDAHULUAN

Peningkatan produksi tanaman bisa dilakukan dengan salah satu cara pemberian pestisida yang bertujuan agar tanaman tidak dirusak oleh hama dan penyakit. Pestisida merupakan substansi kimia dan bahan lain yang digunakan untuk mengendalikan berbagai hama. Bagi petani jenis hama yaitu tungau, tumbuhan pengganggu, penyakit tanaman yang disebabkan oleh fungi (jamur), bakteri, dan virus, nematoda (cacing yang merusak akar), siput, tikus, burung dan hewan lain yang dianggap merugikan (Djojosumarto, 2008). Menurut Munarso *et al.*, (2006), Penggunaan pestisida pada tanaman sayuran di dataran tinggi tergolong sangat intensif, hal ini terutama disebabkan kondisi iklim yang sejuk dengan kelembaban udara dan curah hujan yang tinggi menciptakan kondisi yang baik untuk perkembangbiakan hama dan penyakit tanaman. Namun apabila penggunaan pestisida yang tidak tepat baik secara jenis, waktu, dosis, cara, dan sasaran akan menimbulkan pencemaran dan berdampak pada kesehatan.

Pestisida yang terdapat pada tanaman dapat terserap bersama hasil panen berupa residu yang dapat dikonsumsi oleh konsumen. Residu pestisida adalah zat tertentu yang terkandung dalam hasil pertanian bahan pangan atau pakan hewan, baik sebagai akibat langsung maupun tidak langsung dari penggunaan pestisida. Istilah ini mencakup juga senyawa turunan pestisida, seperti senyawa hasil konversi, metabolit, senyawa hasil reaksi dan zat pengotor yang dapat bersifat toksik (Sakung, 2004). Residu pestisida sintesis sangat sulit terurai secara alami. Bahkan untuk beberapa jenis pestisida, residunya dapat bertahan hingga puluhan tahun.

Pestisida organik yang berasal dari tumbuhan disebut pula dengan pestisida nabati. Contoh tanaman yang dapat digunakan sebagai pestisida yaitu Tanaman pepaya (*Carica papaya*). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Konno dalam Julaily *et al.*, (2013), getah pepaya mengandung kelompok enzim sistein protease seperti *papain* dan *kimopapain*. Getah pepaya juga menghasilkan senyawa-senyawa golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid dan asam amino nonprotein yang sangat beracun bagi serangga pemakan tumbuhan. Adanya kandungan senyawa-senyawa kimia di dalam tanaman pepaya yang terkandung dapat mematikan organisme pengganggu. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yenie *et al.*, (2013) yaitu pembuatan pestisida organik menggunakan metode ekstraksi dari sampah daun pepaya dan umbi bawang putih

menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pepaya dan umbi bawang putih semakin tinggi tingkat kematian hama uji, dimana konsentrasi yang paling banyak membunuh larva nyamuk pada konsentrasi larutan 3000 ppm dengan presentase kematian hewan uji sebesar 95% untuk ekstrak etanol dan 97,5% untuk ekstrak metanol.

Cabai merupakan salah satu tanaman yang mempunyai potensi yang besar, dari jaman dahulu hingga sekarang cabai masih diburu masyarakat untuk dikonsumsi. Budidaya tanaman cabai selalu dilakukan, namun hama pengganggu pada tanaman cabai yaitu hama ulat sering merusak daun dan buah cabai itu sendiri (Meikawati *et al.*, 2013). Di Kabupaten Jember, cabai merupakan hasil produksi pertanian nomor dua setelah buah semangka. Tanaman cabai yang di produksi terutama cabai rawit. Menurut BPS Kabupaten Jember (2014), pada tahun 2013 produksi cabai rawit meningkat mencapai 222.839 kuintal dari produksi tahun 2012 yang hanya sebesar 94.559 kuintal. Agar produksi tanaman cabai ini semakin meningkat tanpa banyak residu pestisida sintetis maka penulis mencoba menerapkan penggunaan pestisida dari rendaman daun pepaya untuk mengendalikan ulat pada tanaman cabai.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat penelitian yang dipakai dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan tiga kelompok alat, yaitu:

a. Alat untuk rendaman daun pepaya:

Pisau, ember, label/etiket, timbangan, gelas ukur

b. Alat untuk menangkap ulat tanaman cabai:

Botol air mineral bervolume 1,5 liter, sarung tangan,

c. Alat untuk uji pengaruh air rendaman daun pepaya terhadap ulat tanaman cabai:

Botol spray, toples kue diameter 14,5 cm dengan tinggi 5 cm, penggaris, pinset, label/etiket

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdapat 2 kelompok bahan yang digunakan, yaitu:

a. Bahan-bahan untuk rendaman daun pepaya:

Daun pepaya segar, air

b. Bahan-bahan untuk uji pengaruh air rendaman daun pepaya terhadap ulat tanaman cabai:

Air rendaman daun pepaya dengan 3 konsentrasi berbeda, 240 ekor ulat tanaman cabai

B. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah suatu bentuk penelitian eksperimental. Ciri khusus dari penelitian eksperimen adalah adanya percobaan atau *trial*. Percobaan itu berupa perlakuan atau intervensi terhadap suatu variabel. Dari perlakuan tersebut diharapkan terjadi perubahan atau pengaruh terhadap variabel yang lain (Notoatmojo, 2005). Desain penelitian ini adalah *True Experimental Design* dengan bentuk *Posttest-Only Control Design*. Pada desain ini terdapat dua kelompok yang masing-masing dipilih secara random (R), yaitu kelompok yang diberi perlakuan (X) dan kelompok yang tidak diberi perlakuan (O). Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non-factorial yang terdiri dari 3 perlakuan (konsentrasi 2%, 5% dan 10%) dan satu kontrol dengan 6 kali pengulangan untuk masing-masing perlakuan. Sampel penelitian ini menggunakan 24 sampel kelompok dengan masing-masing kelompok diberikan 10 ulat grayak (*Spodoptera litura*). Teknik analisis data dengan deskriptif.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian eksperimen yang telah dilakukan dengan menggunakan air rendaman daun pepaya sebagai pestisida nabati mengendalikan hama ulat grayak (*Spodoptera litura*) pada tanaman cabai yang memiliki beberapa variabel penelitian, yaitu antara lain untuk variabel terikat dalam penelitian ini yaitu jumlah ulat grayak (*Spodoptera litura*) yang mati setelah disemprot dengan air rendaman daun pepaya dengan konsentrasi berbeda, sedangkan untuk variabel bebasnya yaitu konsentrasi air rendaman daun (*Carica papaya*) menurut konsentrasi 2%, 5%, dan 10%.

Pada penelitian ini, terdapat kelompok kontrol dan eksperimen yang merupakan variabel bebas dari penelitian. Kelompok kontrol pada penelitian ini adalah ulat grayak yang tidak diberi semprotan air rendaman daun pepaya, kelompok eksperimen pertama (X1) diberi perlakuan dengan menyemprotkan air rendaman daun pepaya dengan konsentrasi 2%, kelompok eksperimen kedua (X2) diberi penambahan perlakuan

dengan menyemprotkan air rendaman daun pepaya dengan konsentrasi 5%, kelompok eksperimen ketiga (X3) diberi perlakuan dengan menyemprotkan air rendaman daun pepaya dengan konsentrasi 10%. Penelitian yang dilakukan diamati berdasarkan waktu pengamatan yaitu selama 5 hari dan berdasarkan pada jumlah ulat yang mati setelah diberi perlakuan.

Jumlah ulat yang Mati Tanpa Perlakuan

Ulat yang mati yang tidak diberi perlakuan atau kelompok kontrol diamati selama 5 hari menunjukkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Ulat yang mati pada kelompok kontrol

Perlakuan	Hari Ke	Pengulangan (ekor)						Total	Rata-rata
		A	B	C	D	E	F		
K	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan Tabel 1 diatas dapat dilihat bahwa hasil penelitian pada kelompok tanpa perlakuan (Kontrol) selama 5 hari pengamatan tidak terdapat satupun ulat yang mati pada setiap pengulangannya.

Jumlah ulat yang Mati dengan Air Rendaman Daun Pepaya (*Carica papaya*) Konsentrasi 2%

Tabel 2. Ulat yang mati pada kelompok perlakuan konsentrasi 2%

Perlakuan	Hari Ke	Pengulangan (ekor)						Total	Rata-rata
		A	B	C	D	E	F		
K	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	2	1	1	0	2	7	1,2
	3	2	3	1	2	2	1	11	1,8
	4	1	1	1	2	1	1	7	1,2
	5	2	2	3	3	3	2	15	2,5
	Total	6	8	6	8	6	6	41	6,83≈7

Berdasarkan Tabel 2 diatas, hasil penelitian pada kelompok perlakuan penyemprotan air rendaman daun pepaya (*Carica papaya*) dengan konsentrasi 2% mulai menunjukkan hasil pada setiap pengulangan yaitu jumlah ulat yang mati setiap harinya dengan

masing-masing 6, 8, 6, 8, 7, dan 6 ekor ulat grayak yang mati. Rata-rata kematian ulat tersebut sebanyak 7 ekor. Berdasarkan pengamatan rata-rata ulat yang mati setiap harinya, ulat yang paling banyak mati pada hari ke lima.

Jumlah ulat yang Mati dengan Air Rendaman Daun Pepaya (*Carica papaya*) Konsentrasi 5%

Tabel 3. Ulat yang mati pada kelompok perlakuan konsentrasi 5 %

Perlakuan	Hari Ke	Pengulangan (ekor)						Total	Rata-rata
		A	B	C	D	E	F		
K	1	1	2	1	2	2	1	9	1,5
	2	1	2	2	2	2	2	11	1,8
	3	2	3	1	3	2	3	14	2,3
	4	4	3	3	2	3	3	18	3
	5	2	0	3	0	0	0	5	0,8
	Total	10	10	10	10	9	9	58	9,7 ≈ 10

Berdasarkan Tabel 3 diatas Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa Pada kelompok perlakuan penyemprotan air rendaman daun pepaya (*Carica papaya*) dengan konsentrasi 5% mulai menunjukkan hasil pada setiap pengulangan yaitu masing-masing 10, 10, 10, 10, 9, dan 9 ekor ulat grayak yang mati. Rata-rata kematian ulat tersebut sebanyak 10 ekor. Berdasarkan pengamatan rata-rata ulat yang mati setiap harinya, ulat yang paling banyak mati pada hari ke empat.

Jumlah ulat yang Mati dengan Air Rendaman Daun Pepaya (*Carica papaya*) Konsentrasi 10%

Tabel 4.Ulat yang mati pada kelompok perlakuan konsentrasi 10 %

Perlakuan	Hari Ke	Pengulangan (ekor)						Total	Rata-rata
		A	B	C	D	E	F		
K	1	5	5	7	6	7	5	35	5,8
	2	5	5	3	4	3	5	25	4,2
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	10	10	10	10	10	10	60	10

Berdasarkan Tabel 4 diatas hasil penelitian Pada kelompok perlakuan penyemprotan air rendaman daun pepaya (*Carica papaya*) dengan konsentrasi 10% mulai menunjukkan hasil pada setiap pengulangan yaitu masing-masing 10, 10, 10, 10, 10,

dan 10 ekor ulat grayak yang mati. Rata-rata kematian ulat tersebut sebanyak 10 ekor. Berdasarkan pengamatan rata-rata ulat yang mati setiap harinya, ulat yang paling banyak mati pada hari pertama. Sedangkan pada hari ketiga semua ulat yang berada di kontainer tidak ada lagi yang hidup.

Pengendalian Ulat Grayak (*Spodoptera litura*) bisa dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya adalah dengan menggunakan pestisida nabati. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap efektivitas air rendaman daun pepaya (*Carica papaya*) sebagai pestisida nabati terhadap Ulat Grayak (*Spodoptera litura*). Daun pepaya memiliki sejumlah kandungan kimia, seperti mengandung enzim papain, alkaloid, Pseudocarpaine, Flavonoid, Saponin, tannins, glikosida, karposid, dan saponin. Papain merupakan satu enzim paling kuat yang dihasilkan oleh seluruh bagian tanaman pepaya, kecuali biji dan akar. Papain adalah suatu zat (enzim) yang dapat diperolehdari getah tanaman pepaya dan buah pepaya. Getah pepaya mengandung sebanyak 10% papain, 45% kimopapain, dan lisozim sebesar 20% (Winarno, 1986). Papain termasuk enzim hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis suatu substrat dengan pertolongan molekul air yang memiliki efek terhadap organisme pengganggu tanaman seperti penolak makan, racun kontak, dan mengganggu fisiologis serangga.

Saponin dan alkaloid merupakan *stomach poisoning* atau racun perut. Bila senyawa tersebut masuk dalam tubuh serangga maka alat pencernaannya akan menjadi terganggu. Alkaloid juga mampu menghambat pertumbuhan serangga, terutama tiga hormon utama dalam serangga yaitu hormon otak (*brain hormone*), hormon edikson, dan hormon pertumbuhan (*juvenile hormone*). Tidak berkembangnya hormon tersebut dapat menyebabkan kegagalan *metamorphosis*. Flavonoid merupakan senyawa kimia pada daun pepaya yang dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan atau sebagai racun pernapasan. Flavonoid mempunyai cara kerja yaitu dengan masuk ke dalam tubuh ulat melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan penurunan fungsi syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan ulat tidak bisa bernapas dan akhirnya mati (Robinson, 1995).

Flavonoid juga dapat menghambat daya makan serangga (*antifeedant*). Bila senyawa ini masuk dalam tubuh serangga, maka alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini juga bekerja dengan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut serangga. Hal ini

mengakibatkan serangga gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya. Akibatnya serangga mati kelaparan.

IV. KESIMPULAN

Telah didapatkan Ulat grayak pada kelompok kontrol yang diamati selama 5 hari tidak mengalami kematian. Pada Konsentrasi 2 % dapat membunuh ulat grayak di hari 5, Konsentrasi 5 % dapat membunuh ulat grayak dengan di hari ke 4. Konsentrasi 10% dapat membunuh ulat grayak dihari ke dua. Sehingga semakin besar konsentrasi yang diberikan, maka semakin cepat pula ulat grayak yang akan mati.

DAFTAR PUSTAKA

- Djojosumarto, P. 2008. Pestisida dan Aplikasinya. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Munarso, J., Miskiyah, Broto, W. 2006. Studi Kandungan Residu Pestisida pada Kubis, Tomat, dan Wortel di Malang dan Cianjur. Bogor: Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian
- Julaily, N., Mukarlina, dan Setyawati T. R. 2013. Pengendalian Hama pada Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L.) Menggunakan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). Jurnal Protobiont, 2(3): 171-175
- Yenie, E., Elystia S., Calvin, A., Irfhan, M. 2013. Pembuatan Pestisida Organik Menggunakan Metode Ekstraksi dari Sampah Daun Pepaya dan Umbi Bawang Putih. Jurnal Teknik Lingkungan, 10(1): 46-59
- Winarno, F.G. 1986. Enzim Pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta

PENGARUH VARIASI SUHU PEMANASAN DALAM PEMBUATAN SENSOR UREA SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL

M. Khoiriyah, B. Fauziyah, A. Hakim
Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang
Email: imima1003@gmail.com

Abstrak

Urea merupakan suatu zat sisa metabolisme yang menjadi salah satu komponen dari darah dengan kadar normal 5 – 25 mg/dL. Urea dapat dijadikan salah satu indikator berbagai masalah kesehatan terutama pada ginjal. Metode penentuan urea secara kolorimetri dengan reagen diasetil monoksim (DAM) dan tiosemikarbazida (TSC) serta reagen asam dikembangkan menjadi sebuah sensor kimia berbasis plat silika gel pada penelitian ini. Sensor ini dapat mendeteksi urea melalui perubahan warna menjadi merah muda. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui teknik immobilisasi serta suhu pemanasan terbaik dalam pembuatan sensor ini. Reagen DAM-TSC dan reagen asam diimmobilisasikan pada plat silika gel secara adsorpsi menggunakan variasi teknik yaitu penotolan, penyemprotan dan pelapisan untuk mengetahui teknik immobilisasi terbaik. Variasi suhu pemanasan kemudian dilakukan untuk menentukan suhu pemanasan terbaik. Pembentukan warna merah muda pada plat sebagai respon pada sensor dianalisis berdasarkan model warna RGB dengan *adobe photoshop CS5*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik immobilisasi terbaik reagen DAM-TSC pada plat silika gel adalah secara penotolan yang menghasilkan waktu respon 2 menit dengan nilai $\Delta mean$ RGB sebesar 72. Suhu pemanasan yang dapat menghasilkan respon terbaik dari sensor yaitu pemanasan pada suhu 100 °C selama 30 menit.

Kata Kunci: urea, sensor, diasetil monoksim, tiosemikarbazida, sensor, adsorpsi, RGB

I. PENDAHULUAN

Urea merupakan salah satu senyawa hasil akhir dari metabolisme yang dikeluarkan dari tubuh dalam bentuk urin melalui ginjal. Urea juga direabsorpsi oleh ginjal dan menjadi kandungan dari darah dengan kadar 5 – 25 mg/dL (Shanmugam *et al.*, 2010). Kadar urea tidak hanya dapat mencerminkan adanya gangguan terhadap fungsi ginjal, akan tetapi juga merupakan respon normal yang diberikan oleh ginjal terhadap kurangnya volume cairan ekstraseluler maupun terjadinya penurunan aliran darah menuju ginjal (Akçay *et al.*, 2010). Gangguan fungsi ginjal dapat menggambarkan kondisi sistem vaskuler tubuh sehingga mengetahuinya lebih awal dapat membantu

upaya pencegahan pasien agar tidak mengalami komplikasi yang lebih parah seperti stroke, jantung koroner, gagal ginjal kronis, penyakit pembuluh darah perifer dan lain-lain (Amin *et al.*, 2014). Kebutuhan mengenai pentingnya melakukan analisis urea secara rutin khususnya dalam bidang kesehatan mendorong para peneliti untuk mengembangkan berbagai metode analisis urea dan salah satunya adalah sensor kimia.

Metode analisis urea yang telah dikembangkan sebagai sebuah sensor adalah secara potensiometri. Metode ini menggunakan enzim urease sebagai reseptor pada sensor sehingga disebut biosensor urea. Penggunaan biosensor urea berbasis enzim memang memiliki keunggulan tinggi dalam hal spesifisitas dan selektifitas reaksi yang terjadi dengan analit, sensitivitas reaksi yang tinggi dan akurasi yang baik, akan tetapi penggunaan enzim serta elektroda sensitif pH dalam metode tersebut memiliki beberapa kekurangan yang menyebabkan kinerja biosensor mudah terganggu (Ruzicka *et al.*, 1979; Eddowes, 1987; Koncki *et al.*, 1992 dalam Eggenstein *et al.*, 1999). Maka dari itu perlu dilakukan pembuatan sensor urea berbasis reagen kimia lain yang lebih stabil dan memberikan hasil yang sama baiknya. Salah satunya adalah menggunakan reagen diasetil monoksim dan tiosemikarbazida. Metode penentuan urea secara kolorimetri berbasis reagen diasetil monoksim awalnya memiliki banyak kelemahan sehingga berbagai pengembangan dari metode tersebut dilakukan untuk mengatasinya meliputi penggunaan kombinasi asam serta penambahan ion Fe(III) dan tiosemikarbazida untuk menghasilkan warna yang lebih stabil (Rahmatullah dan Boyde, 1980).

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan pembuatan sensor urea berbasis reagen diasetil monoksim, tiosemikarbazida dan reagen asam untuk mengembangkan metode analisis urea secara kolorimetri menggunakan reagen tersebut. Reagen diimmobilisasikan secara adsorpsi pada sebuah material pendukung berupa plat silika gel yang biasa digunakan dalam analisis KLT. Pengaruh variasi suhu pemanasan dikaji untuk menentukan suhu pemanasan terbaik dalam reaksi antara urea dan reagen DAM, TSC serta reagen asam karena pemanasan sangat diperlukan untuk mempercepat respon yang dihasilkan oleh sensor. Sensor yang dibuat pada penelitian ini mendeteksi urea dari perubahan warna yang ditimbulkan saat sampel yang berupa larutan urea diteteskan pada plat yang telah terimmobilisasi reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida (DAM-TSC) dan reagen asam (asam sulfat dan asam fosfat).

Sementara warna yang dihasilkan dianalisis secara digital berdasarkan model warna RGB

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah urea, diasetil monoksim (DAM), tiosemikarbazida (TSC), FeCl_3 , H_2SO_4 p.a, H_3PO_4 p.a, plat silika gel dan aquades.

B. Pembuatan Sampel Simulasi Urea

Sampel simulasi urea yang dibuat merupakan larutan urea dalam air dengan konsentrasi 100 mmol/L.

C. Pembuatan Reagen Identifikasi Urea

Reagen ini terdiri dari tiga jenis reagen, yaitu reagen diasetil monoksim, tiosemikarbazida dan reagen asam. Reagen diasetil monoksim dibuat dengan konsentrasi 100 mmol/L sebanyak 50 mL dan reagen tiosemikarbazida dibuat dengan konsentrasi 8 mmol/L. Sementara reagen asam dibuat dengan cara; dipipet 1 mL H_3PO_4 dan 6 mL H_2SO_4 pekat dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Ditambahkan aquades 75 mL. Didinginkan campuran tersebut dan ditambahkan 0,1 mL larutan FeCl_3 10%. Diencerkan larutan dengan aquades di labu takar 100 mL sampai volume mencapai tanda batas dan dihomogenkan. Ketiga reagen tersebut kemudian dicampur dengan perbandingan volume 1 : 1 : 2 dengan total volume 10 mL.

D. Penentuan Teknik Immobilisasi Terbaik

Disiapkan plat silika gel ukuran 2 x 2 cm yang serta reagen identifikasi urea sebanyak 0,5 mL. Reagen tersebut kemudian diimmobilisasikan di atas plat dengan variasi teknik yaitu secara penotolan, pelapisan dan penyemprotan sampai reagen terserap seluruhnya. Dikeringkan plat silika gel yang telah terimmobilisasi reagen identifikasi urea dengan *hairdryer*. Ditetesi plat yang telah kering dengan sampel simulasi urea menggunakan pipet tetes. Plat dipanaskan dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit. Dihitung waktu respon serta diamati kejelasan dari respon warna yang terbentuk pada masing-masing plat, sehingga diketahui teknik immobilisasi terbaik. Respon yang dihasilkan oleh deteksi adanya urea dalam sampel adalah berupa bercak

warna merah muda yang akan tampak pada permukaan plat. Diulangi prosedur di atas sebanyak tiga kali pengulangan.

E. Penentuan Suhu Pemanasan Terbaik

Disiapkan plat silika gel ukuran 2 x 2 cm sertareagen identifikasi urea sebanyak 0,5 mL. Diimmobilisaikan ke atas plat silika gel sampai reagen terserap seluruhnya dengan teknik adsorpsi terbaik yang didapat. Plat lalu dikeringkan dengan *hairdryer*. Ditetesi plat dengan sampel simulasi urea menggunakan pipet tetes. Plat didiamkan 5 menit kemudian dipanaskan dalam oven dengan variasi suhu pemanasan; 35; 65; dan 100 °C selama 30 menit. Dihitung waktu respon serta diamati kejelasan dari respon warna yang terbentuk pada masing-masing plat, sehingga diketahui suhu pemanasan terbaik. Diulangi prosedur di atas sebanyak tiga kali pengulangan.

F. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara langsung dengan mengamati hasil penelitian berupa sensor yang telah berubah warna setelah ditetesi urea yang dilakukan secara berulang. Sensor tersebut kemudian dipotret menggunakan kamera dan dianalisis warna yang timbul berdasarkan model warna RGB menggunakan *adobe photoshop CS5* sehingga menjadi data numerik untuk selanjutnya data diolah dengan *microsoft excel 2013*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

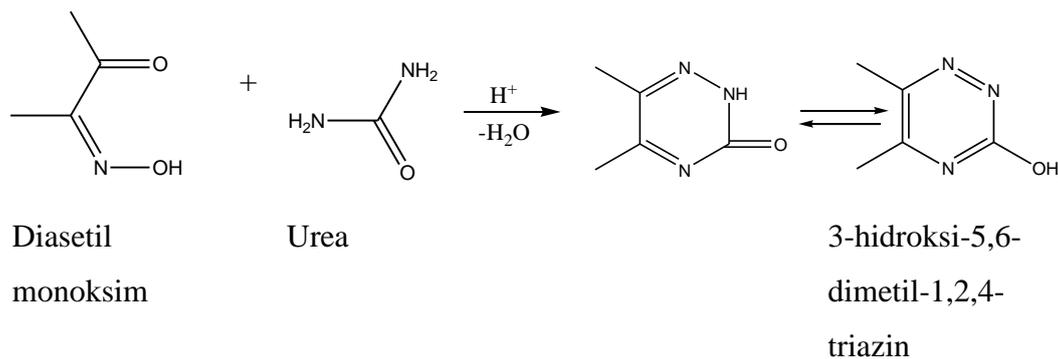
Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan sebuah sampel simulasi untuk menggantikan sampel serum darah penderita penyakit gangguan fungsi ginjal. Konsentrasi normal urea dalam darah adalah 5 – 25 mg/dL (Shanmugam *et al.*, 2010) atau setara dengan 0,8 – 4 mmol/L sehingga untuk mengkondisikan sampel seperti pada penderita kelainan fungsi ginjal pada umumnya yaitu dengan konsentrasi sampel simulasi yang dibuat jauh lebih tinggi dari kadar normal tersebut yaitu sebesar 100 mmol/L.

A. Penentuan Teknik Immobilisasi Terbaik

Immobilisasi reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida (DAM-TSC) dan reagen asam secara adsorpsi pada plat silika gel ini dilakukan melalui tiga variasi teknik yaitu secara penotolan, pelapisan dan penyemprotan untuk mengetahui teknik immobilisasi yang menghasilkan sensor dengan kinerja yang baik. Plat silika gel yang awalnya

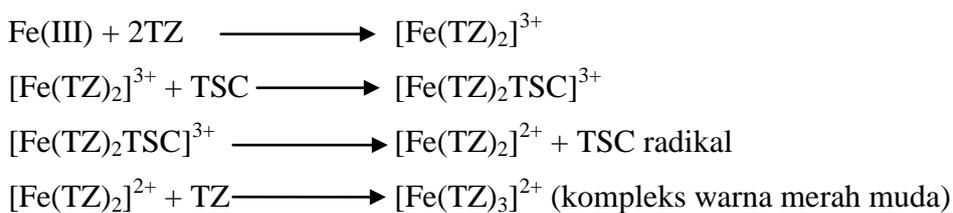
berwarna putih pada permukaannya tidak mengalami perubahan warna meskipun telah terimmobilisasi campuran reagen tersebut karena campuran reagen tidak berwarna sehingga tidak mempengaruhi warna plat.

Plat silika gel yang awalnya berwarna putih kemudian berubah menjadi merah muda setelah ditetesi sampel buatan urea dan dilakukan pemanasan. Perubahan warna ini disebabkan terjadinya reaksi antara reagen DAM, TSC, reagen asam dan urea yang menghasilkan suatu kompleks berwarna merah muda. Dugaan reaksi yang berlangsung adalah sebagai berikut (Beale dan Croft, 1961):



Gambar 1. Reaksi kondensasi diasetil monoksिम dan urea menghasilkan 1,2,4-triazin tersubstitusi

Triazin (TZ) yang terbentuk tersebut kemudian bereaksi lebih lanjut dengan tiosemikarbazida (TSC) dalam beberapa rangkaian reaksi dan membentuk kompleks akhir berwarna merah muda berdasarkan persamaan berikut (Ratnam dan Anapindi, 2012):



Hasil penentuan teknik immobilisasi terbaik ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 kejelasan warna akhir ditinjau dari nilai Δ_{mean} RGB masing-masing plat dengan variasi teknik immobilisasi, intensitas warna mengalami sedikit peningkatan dari hasil adsorpsi secara penyemprotan, pelapisan kemudian penotolan akan tetapi dengan selisih nilai yang tidak jauh berbeda akan tetapi nilai paling tinggi dihasilkan pada teknik immobilisasi secara penyemprotan yaitu sebesar 72. Di samping

itu, plat dengan teknik adsorpsi secara penotolan memiliki warna yang relatif lebih rata dibandingkan pelapisan maupun penyemprotan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa teknik immobilisasi terbaik yang dihasilkan adalah secara penotolan ditinjau dari waktu respon serta respon warna terbaik yang diberikan.

Tabel 1. Hasil penentuan teknik immobilisasi terbaik

No	Teknik adsorpsi	Waktu respon	$\Delta mean$ RGB
1	Penyemprotan	3 menit	65,778
2	Pelapisan	2 menit	70,444
3	Penotolan	2 menit	72

B. Penentuan Suhu Pemanasan Terbaik

Reaksi antara DAM-TSC, reagen asam dan urea berlangsung sangat lambat dalam keadaan normal sehingga pemanasan penting untuk dilakukan agar reaksi dapat berlangsung lebih cepat (Shanmugam *et al.*, 2010). Maka dari itu, dilakukan pula penentuan terhadap suhu pemanasan untuk menghasilkan sensor yang dapat memberikan respon yang terbaik. Variasi suhu yang digunakan adalah 35; 60; dan 100 °C dan teknik immobilisasi yang digunakan adalah teknik immobilisasi terbaik yang telah diperoleh sebelumnya. Suhu pemanasan terbaik ditentukan berdasarkan waktu respon serta kejelasan warna akhir yang terbentuk pada plat. Tabel 2 berikut menunjukkan hasil penentuan suhu pemanasan terbaik.

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa plat dengan suhu pemanasan paling rendah (35 °C) memberikan respon atau perubahan warna sangat lambat yaitu pada 20 menit pemanasan akan tetapi kejelasan warna akhir yang dihasilkan masih sangat rendah dan hampir tidak dapat diamati sedangkan plat dengan suhu pemanasan 60 °C dapat berubah warna pada menit ke 10 pemanasan, warna yang terbentuk sampai 30 menit pemanasan sudah lebih terlihat daripada pada suhu 35 °C. Sementara itu, plat yang dipanaskan pada suhu 100 °C mulai berubah warna pada sekitar menit ke-2 pemanasan dan setelah 30 menit pemanasan, kejelasan warna yang dihasilkan adalah paling tinggi ditinjau dari nilai $\Delta mean$ RGB yang dihasilkan yaitu sebesar 94,556. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu pemanasan yang digunakan, dapat mempercepat respon

terbentuknya warna pada plat serta kejelasan warna akhir yang dihasilkan juga semakin meningkat. Maka dari itu dapat dikatakan bahwa suhu pemanasan yang dibutuhkan untuk reaksi antara reagen dan urea untuk menghasilkan warna yang optimum adalah pada 100 °C ditinjau dari waktu respon serta kejelasan warna akhir yang dihasilkan pada sensor.

Tabel 2.Hasil penentuan suhu pemanasan terbaik

Suhu			
No	Pemanasan (°C)	Waktu respon	Δ Mean RGB
1	35	20 menit	76,889
2	60	10 menit	78,778
3	100	2 menit	94,556

IV. KESIMPULAN

Teknik immobilisasi terbaik reagen DAM, TSC dan reagen asam pada plat silika gel untuk pembuatan sensor urea secara adsorpsi adalah secara penotolan. Sementara suhu pemanasan terbaik yang menghasilkan respon terbaik pada sensor yang dibuat adalah pemanasan pada suhu 100 °C.

DAFTAR PUSTAKA

- Akcay, A., Turkmen, K., DongWon, L. dan Edelstein C. L. 2010. Update on The Diagnosis and Management of Acute Kidney Injury. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*. 3: 129 – 140.
- Amin, N., Mahmood, R. T., Asad, M. J., Zafar, M. dan Raja, M. 2014. Evaluating Urea and Creatinine Levels in Chronic Renal Failure Pre and Post Dialysis: A Prospective Study. *Journal of Cardiovascular Disease*. Volume 2. Nomor 2.
- Beale, R. N. dan Croft, D. 1961. A Sensitive Method for Colorimetric Determination of Urea. *J. Clin Path.* 14: 418 – 424.
- Eggenstein, C., Borchdat, M., Diekmann, C., Grundig, B., Dumschat, C., Camman, K. dkk. 1999. A Disposable Biosensor for Urea Determination in Blood Based on an Ammonium-Sensitive Transduce. *Biosensors & Bioelectronics*. 14: 33 – 41.

- Rahmatullah, M. dan Boyde, T. R. C. 1980. Improvements in the Determination Of Urea Using Diacetyl Monoxime; Method With and Without Deproteinisation. *Clinical Chimica Acta*. 107: 3 – 9.
- Ratnam, S dan Anipindi, N. R. 2012. Kinetic and Mechanistic Studies on The Oxidation of Hydroxylamine, Semicarbazide, and Thiosemicarbazide by Iron(III) in The Presence of Triazines. *Transition Met Chem*. 37:453 – 462.
- Shanmugam, S, T., Kumar, S. dan Selvarn, K. P. 2010. *Laboratory Handbook on Biochemistry*. New Delhi: PHI Learning Private Limited.

PERFORMANSI ANALITIK SENSOR UREA TERIMMOBILISASI REAGEN DIASETIL MONOKSIM (DAM) DAN TIOSEMIKARBAZIDA (TSC) SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL

M.I. Fahmi, B. Fauziyah, S. Maimunah
Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang
Email: muhammadiqbalfahmi53@yahoo.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang pembuatan sensor urea secara adsorpsi fisik menggunakan reagen diasetil monoksिम dan reagen tiosemikarbazida serta kombinasi asam sulfat dan asam posfat dengan campuran FeCl_3 pada plat silika gel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui performansi analitik sensor yang meliputi suhu pemanasan terbaik, waktu respon sensor, stabilitas sensor, dan konsentrasi terkecil analit yang mampu dideteksi oleh sensor. Semua reagen diimmobilisasikan pada plat silika gel dan bereaksi dengan urea. Reagen DAM akan bereaksi dengan urea membentuk senyawa triazin (TZ) dan bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk kompleks $[\text{Fe}(\text{TZ})_3]^{2+}$ yang menghasilkan sinyal warna merah muda. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu suhu pemanasan terbaik terjadi pada suhu 100°C . Waktu respon yang dihasilkan sensor dalam mendeteksi urea terjadi pada detik ke-180. Stabilitas sensor yang dihasilkan pada penyimpanan suhu dingin adalah < 24 jam dan penyimpanan suhu ruang hampir mencapai 24 jam. Sedangkan nilai LoD dan LoQ dari penelitian adalah $0,1232$ mmol/L dan $0,4105$ mmol/L.

Kata Kunci: urea, sensor, diasetil monoksिम, tiosemikarbazida, sensor, adsorpsi, RGB

I. PENDAHULUAN

Urea merupakan molekul hasil dari ekskresi ammonia yang berasal dari proses katabolisme asam amino (Miles, 2003). Kadar normal dari urea dalam tubuh atau dalam darah adalah $5-25$ g/dL (Shanmugam *et al.*, 2010). Selain di dalam tubuh urea juga terdapat dalam lingkungan karena dapat menyuburkan tanaman melalui proses nitrifikasi. Akan tetapi pupuk urea juga mampu mencemari lingkungan akibat dari pemakaian pupuk urea secara berlebihan. Hal tersebut dikarenakan tanaman mempunyai kemampuan yang terbatas dalam menyerap pupuk urea sehingga kelebihan urea akan mencemari lingkungan (Triyono *et al.*, 2013).

Deteksi urea dapat dilakukan dengan metode kolorimetri memakai reagen diasetilmonoksim yang menghasilkan warna merah muda (Rho, 1971). Reaksi antara urea dengan diasetil monoksim dan tiosemikarbazida dengan adanya ion Fe(III) dalam medium asam pada kondisi panas akan menghasilkan senyawa berwarna merah muda. Ion Fe(III) diberikan oleh FeCl₃ dan medium asam disumbangkan oleh adanya asam sulfat dan asam ortofosfat dalam reagen asam (Shanmugam *et al.*, 2010).

Sensor kimia merupakan perangkat yang mampu merubah suatu informasi kimia menjadi sinyal yang mampu dibaca oleh pengguna dimana informasi tersebut dapat berupa reaksi kimia (Hulanicki *et al.*, 1991). Sensor kimia dapat dibuat dengan mengikat reagen pada suatu matrik dengan tidak merubah sifat dari reagen yang disebut dengan proses immobilisasi (Kuswandi, 2010).

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, pipet ukur, pipet tetes, kamera *Sony Ericson 5 mega pixel, photoshop CS5, hot plate, waterbath*, dan peralatan gelas lain yang biasa digunakan di laboratorium kimia.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, urea, diasetilmonoksim (DAM), tiosemikarbazida (TSC), *ferric chloride* (FeCl₃), asam sulfat (H₂SO₄) pekat, asam fosfat (H₃PO₄), plat silika gel dan aquades.

B. Immobilisasi Reagen pada Plat Silika Gel

Immobilisasi reagen identifikasi urea pada plat silika gel dilakukan dengan teknik adsorpsi fisik kemudian dikeringkan dengan hairdryer sampai kering.

C. Penentuan Suhu Terbaik

Penentuan suhu terbaik dilakukan dengan variasi suhu pemanasan 35°C, 60°C, 100°C selama 20 menit memakai urea konsentrasi 100 mmol/L kemudian diamati dan difoto perubahan warna yang terbentuk. Perlakuan tersebut diulangi sebanyak 3 kali.

D. Penentuan Waktu Respon

Penentuan waktu respon dilakukan dengan variasi waktu pemanasan 20 – 300 detik dengan interval 20 detik selama 20 menit memakai urea konsentrasi 100 mmol/L

kemudian diamati dan difoto perubahan warna yang terbentuk pada setiap interval. Perlakuan tersebut diulangi sebanyak 3 kali.

E. Penentuan Stabilitas Sensor

Stabilitas sensor adalah kemampuan sensor untuk mempertahankan karakteristiknya selama periode waktu tertentu. Sensor yang telah diimmobilisasi disimpan pada dua kondisi yang berbeda yaitu pada temperatur 10°C (temperatur dingin) dan 30°C (temperatur kamar). Pengukuran dilakukan berulang-ulang selama 5 hari dengan selang waktu penyimpanan satu hari.

F. Penentuan Konsentrasi Terendah Urea yang Dapat dideteksi oleh Sensor (LoD dan LoQ)

Penentuan konsentrasi terendah dilakukan dengan membuat urea konsentrasi 0,2 mmol/L, 0,5 mmol/L, 0,8 mmol/L, dan 1,2 mmol/L. Kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu terbaik selama 20 menit dan diamati. Kemudian dihitung nilai LoD dan LoQ menggunakan rumus berikut (Harmita, 2004):

$$SY/X = \sqrt{\frac{\sum(Y - Y_i)^2}{n - 2}}$$

$$LoD = \frac{3\left(\frac{SY}{X}\right)}{slope}$$

$$LoQ = \frac{10\left(\frac{SY}{X}\right)}{slope}$$

Keterangan :

SY/X = Simpangan Baku Residual

LOD = *Limit of Detection*

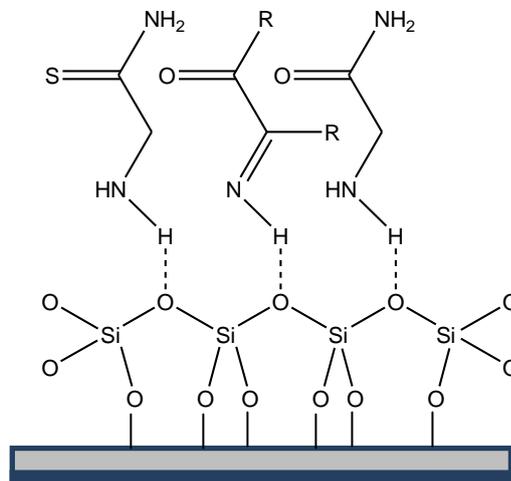
LOQ = *Limit of Quantitation*

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Immobilisasi Reagen pada Plat Silika Gel

Teknik immobilisasi yang digunakan untuk mengikat reagen DAM-TSC dan reagen asam adalah teknik adsorpsi. Hal itu dikarenakan teknik adsorpsi merupakan salah satu teknik yang paling sederhana dalam immobilisasi molekul pada permukaan

sensor. Teknik adsorpsi yang digunakan adalah adsorpsi fisika karena interaksi antara adsorben dan adsorbat tidak terjadi ikatan kimia tetapi dapat berupa gaya van der Waals maupun ikatan hidrogen. Hal tersebut dapat dilihat pada ilustrasi Gambar 1 berikut:



Gambar 1. Ikatan hidrogen antara reagen dan plat silika gel

Menurut Buhani *et al* (2009), silika gel memiliki situs aktif gugus silanol (SiOH) dan siloksan (Si-O-Si) dipermukaan. Partikel silika gel mengandung gugus hidroksil dipermukaannya yang membentuk ikatan hydrogen dengan molekul-molekul polar. Gugus hidroksil tersebut berikatan dengan atom O dan N yang terdapat pada reagen diasetilmonoksimid dan tiosemikarbazida membentuk ikatan hidrogen.

Teknik pengeringan untuk proses immobilisasi dilakukan dengan menggunakan *hairdryer* karena alat tersebut mampu mengeringkan lebih cepat dengan suhu yang relatif rendah sehingga reagen yang akan diikat pada plat silika kemungkinan besar tidak akan menguap. Hal itu sangat penting karena apabila reagen dapat terperangkap secara maksimal pada plat silika maka ketika diujikan dengan analit akan bereaksi dengan maksimal yang dapat dilihat dari perubahan warnanya.

B. Penentuan Suhu Terbaik

Hasil dari penentuan suhu terbaik dapat dilihat pada Tabel 1 berikut. Tabel 1 menunjukkan suhu terbaik terjadi pada suhu 100°C dengan nilai Δ mean RGB tertinggi. Nilai RGB tersebut merupakan kuantitas senyawa yang ada dalam media karena pada dasarnya, variasi warna suatu sistem berubah dengan berubahnya konsentrasi suatu komponen (Fatkhayah, 2013). Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi

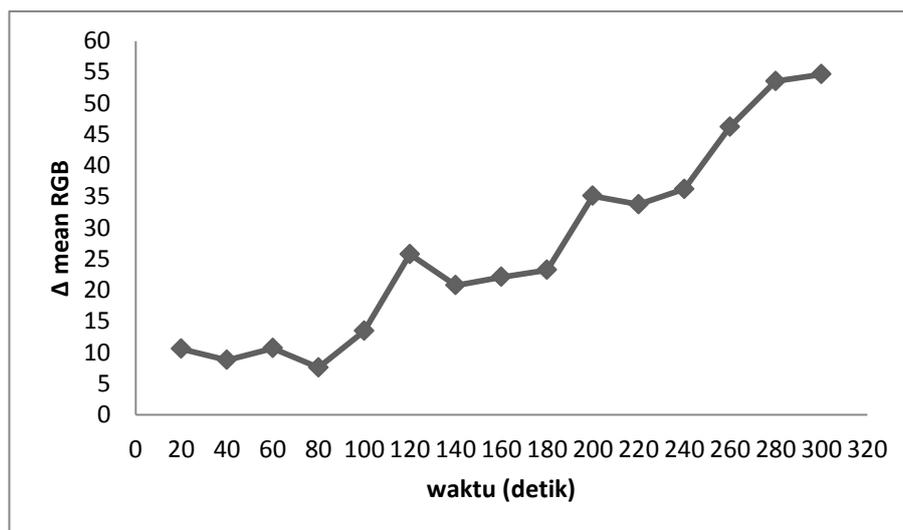
laju reaksi karena semakin tinggi suhu yang diberikan seharusnya reaksi yang terjadi semakin maksimal karena ketika suatu senyawa dipanaskan maka molekul akan bergerak semakin cepat sehingga kemungkinan interaksi antar molekul semakin mungkin terjadi sehingga reaksi yang terjadi semakin cepat.

Tabel 1. Hasil penentuan suhu pemanasan terbaik

No.	Suhu Pemanasan (°C)	Waktu pertama kali warna terbentuk	Δ mean RGB
1.	35	-	76,8889
2.	60	600 detik	78,7778
3.	100	120 detik	94,5556

C. Penentuan Waktu Respon

Hasil dari penentuan waktu respon dapat dilihat pada Gambar 2 berikut:



Gambar 2. Penentuan waktu respon

Waktu respon diperoleh berdasarkan waktu pertama kali sensor menghasilkan sinyal dan sinyal tersebut stabil. Penentuan waktu respon dimulai dari detik ke-20 sampai detik ke-300. Data yang diperoleh kemudian diubah menjadi data berupa nilai Δ mean RGB yang diperoleh dari hasil pengurangan blanko dengan nilai rata-rata mean RGB pada tiap variasi waktu. Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa awal grafik mulai naik terjadi ketika waktu pemanasan pada detik ke-180 dan mulai stabil terjadi pada detik ke-200 dengan sensor yang menghasilkan warna dan nilai RGB yang meningkat.

Sensor pada waktu detik ke-20 sampai detik ke-160 warna yang dihasilkan mudah hilang. Hal itu dimungkinkan karena reaksi yang terjadi belum optimal sehingga ketika sudah tidak ada pemanasan, kompleks yang terbentuk akan terurai kembali.

D. Penentuan Stabilitas Sensor

Hasil dari penentuan stabilitas dapat dilihat pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil penentuan stabilitas sensor

No.	Hari ke-	Δ Mean RGB		Kondisi Sensor	
		Suhu 10°C	Suhu 30°C	Suhu 10°C	Suhu 30°C
1.	0	65,6667	56,1667	+	+
2.	1	50,1667	47,6667	+	+
3.	2	47,1667	43,6667	+	+
4.	3	44,6667	40,6667	+	-
5.	4	42,1667	40,6667	+	-

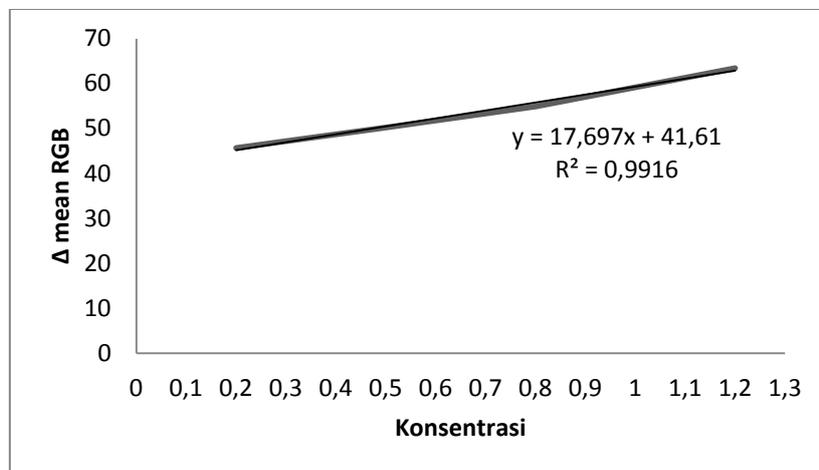
Keterangan: + = Baik
- = Rusak

Tabel 2 tersebut menunjukkan bahwa nilai Δ Mean RGB pada suhu dingin lebih besar dibandingkan pada suhu ruang yang menunjukkan intensitas warna yang terbentuk pada sensor yang disimpan di tempat dingin lebih besar dibandingkan dengan di suhu ruang. Udara atmosfer atau suhu ruang merupakan campuran antara udara dan uap air (lembab). Saat udara dalam keadaan lembab udara memiliki tekanan uap yang tinggi sedangkan tekanan uap pada plat silika gel rendah sehingga uap air berpindah dari udara ke silika gel untuk mencapai kesetimbangan uap air. Uap air tersebut dimungkinkan akan mempengaruhi reagen DAM-TSC ketika bereaksi dengan urea karena air akan membuat deaktivasi pada permukaan silika. Suhu dingin pada dasarnya dapat menghambat reaksi-reaksi kimiawi dengan kata lain komposisinya relatif konstan sehingga ditambahkan sampel urea, reagen DAM-TSC yang terimmobilisasi dalam plat silika gel mampu bereaksi secara maksimal dengan intensitas warna yang lebih tinggi. Dalam penelitian ini, penyimpanan sensor hari ke-3 dan ke-4 pada suhu ruang menunjukkan bahwa sensor yang dihasilkan pecah ketika dipanaskan. Batas ketidakstabilan atau waktu pakai suatu sensor dalam mendeteksi analit tidak boleh lebih dari 15 % dari respon sensor semula (Kuswandi, 2010). Jika dihitung berdasarkan ketentuan tersebut kestabilan sensor yang dihasilkan pada penyimpanan suhu dingin

adalah < 24 jam sedangkan pada penyimpanan suhu ruang stabilitas sensor hampir mencapai 24 jam.

E. Penentuan Konsentrasi Terendah Urea yang Dapat dideteksi oleh Sensor (LoD dan LoQ)

Hasil dari penentuan konsentrasi terkecil dapat dibuat kurva standart seperti pada Gambar 3. Berdasarkan kurva tersebut didapatkan persamaan regresi yaitu $y = 17,697x + 41,61$ dimana y adalah Δ mean RGB, b adalah slope, x adalah konsentrasi, sedangkan a adalah intersep. Dengan nilai koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9916 berarti respon yang diberikan oleh sensor terhadap konsentrasi analit telah memenuhi syarat yang ditetapkan, yakni $R^2 > 0,99$.



Gambar 3. Grafik kurva standar sensor

Berdasarkan kurva tersebut didapatkan persamaan regresi yaitu $y = 17,697x + 41,61$ dimana y adalah Δ mean RGB, b adalah slope, x adalah konsentrasi, sedangkan a adalah intersep. Dengan nilai koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9916 berarti respon yang diberikan oleh sensor terhadap konsentrasi analit telah memenuhi syarat yang ditetapkan, yakni $R^2 > 0,99$.

Sensitivitas yang diperoleh dari pembuatan kurva standar sensor ureaditunjukkan dengan nilai *slope* (kemiringan) sebesar 17,697. Nilai tersebut menunjukkan setiap perubahan konsentrasi (sumbu x) akan memberikan perubahan terhadap nilai absorbansi (sumbu y) sebesar 17,697.

Karakteristik suatu sensor juga ditentukan oleh kemampuannya mendeteksi konsentrasi suatu analit. Semakin kecil konsentrasi yang bisa dideteksi, semakin baik

karakteristik sensor tersebut (Fauziyah, 2013). Berdasarkan data yang telah diperoleh, nilai LoD dan LoQ dapat hitung sebagaimana Tabel 3 berikut:

Tabel 3.Data perhitungan LoD dan LoQ

X	\bar{y}	y_i	$(\bar{y} - y_i)$	$(\bar{y} - y_i)^2$
0,2	45,6667	45,1494	0,5173	0,2676
0,5	50,2222	50,4585	-0,2363	0,0558
0,8	54,8889	55,7676	-0,8787	0,7721
1,2	63,4444	62,8464	0,5980	0,3576
$\sum (\bar{y} - y_i)^2$				1,4531

Berdasarkan data Tabel 3 dapat dihitung nilai simpangan baku residual (SY/X) yaitu sebesar 0,72655. Data tersebut kemudian diolah dengan perhitungan untuk memperoleh nilai dari LoD dan LoQ. Batas deteksi (LoD) adalah parameter uji batas dengan jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko (Harmita, 2004). Nilai LoD yang diperoleh dari sensor dalam mendeteksi urea adalah 0,1232 mmol/L. Apabila sensor mampu mendeteksi urea dengan konsentrasi <0,1232 mmol/L, maka sinyal yang dihasilkan tidak dipercaya sebagai analit melainkan sebagai noise. Apabila sensor mampu mendeteksi urea dengan konsentrasi >0,1232 mmol/L, maka sensor tersebut dapat dikatakan memberi sinyal perubahan terhadap analit. Akan tetapi konsentrasi analit yang berada pada limit deteksi belum sepenuhnya dapat dipercaya karena akurasi yang dihasilkan rendah (Hidayati, 2013).

Nilai batas kuantitasi (LoQ) yang diperoleh pada pembuatan kurva sensor dalam mendeteksi urea sebesar 0,4105 mmol/L. Konsentrasi urea pertama pada kurva standar berada dibawah nilai limit kuantitasi yang menandakan bahwa hasil yang didapatkan mempunyai akurasi yang rendah. Sedangkan konsentrasi kedua berada diatas nilai limit kuantitasi yang menunjukkan bahwa sensor yang dihasilkan memiliki akurasi yang cukup tinggi. Limit kuantitasi menentukan batas rentang kerja yang harus dicapai dalam suatu pengukuran. Meskipun pada rentang 0,2 mmol/L sampai 1,2 mmol/L dalam kurva standar menunjukkan hasil yang linear, namun pengukuran harus mencapai limit

kuantitasi agar pengukuran lebih akurat. Dengan demikian sesuai dengan gambar kurva standar sensor urea, hasil pengukuran pada konsentrasi kedua dikatakan lebih baik dengan konsentrasi yang melebihi LoQ sehingga memberikan hasil dengan akurasi yang tinggi.

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Suhu terbaik sensor dalam mendeteksi urea adalah 100°C. Sedangkan waktu repon sensor dalam mendeteksi urea dengan menggunakan reagen diasetil monoksim-tiosemikarbazida terjadi pada detik ke-180.
2. Stabilitas sensor yang dihasilkan dalam mendeteksi urea pada penyimpanan suhu dingin < 24 jam dan pada penyimpanan suhu ruang hampir mencapai 24 jam.
3. Nilai batas deteksi (LoD) dan batas kuantitasi (LoQ) urea yang dapat dideteksi oleh sensor sebesar 0,1232 mmol/L dan 0,4105 mmol/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Buhani, Suharsono, dan Sumadi. 2009. Production of Metal Ion Imprinted Polymer from Mercapto-Silica Through Sol-Gel Process as Selective Adsorbent of Cadmium, *Desalination*. 251: 83-89.
- Fatkhiyah, N. 2013. Analisa Pewarna Pada Minuman dengan Menggunakan Kamera Digital. Skripsi. Universitas Jember.
- Fauziyah, B. 2012. Optimasi Parameter Analitik Biosensor Urea Berbasis Immobilisasi Urease dalam Membran Polianilin. *Saintis*. Volume 1. Nomor 1: 65-76.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol.1. No.3, 117-135.
- Hidayati, E.N. 2013. Perbandingan Metode Destruksi pada Analisis Pb dalam Rambut dengan AAS. Skripsi. Universitas Negeri Semarang.
- Hulanicki, A. Stanislaw, G. dan Folke, I. 1991. Chemichal Sensor Definition and Classification. *Pure and Appl Cham*. Vol 63. No 9. Hal 1247-1250.
- Kuswandi, B. 2010. Sensor. Jember: Universitas Jember Press.

- Miles, B. 2003. The Urea Cycle. <https://www.tamu.edu/faculty/bmiles/lectures/urea.pdf>. diakses pada 20 Juni 2014.
- Rho, J. H. 1971. Direct Fluorometric Determination of Urea in Urine. *Clinical Chemistry*. Vol. 18. No. 5.
- Shanmugam, S; Kumar, Sathish, T, dan Selvam, Panneer, K. 2010. *Laboratory Handbook On Biochemistry*. New Delhi: PHI Learning Private Limited.
- Triyono, A. Purwanto., dan Budiyo. 2013. Efisiensi Penggunaan Pupuk –N untuk Pengurangan Kehilangan Nitrat pada Lahan Pertanian. ISBN.

PENGARUH VARIASI REAGEN ASAM DALAM FABRIKASI SENSOR UREA BERBASIS REAGEN *DIACETYL MONOXIME- THIOSEMICARBAZIDE* SECARA ADSORPSI PADA PLAT SILIKA GEL

H.I Badi'ah; B. Fauziyah; H. Sugihantoro
Jurusan Kimia, Fakultas Saintek, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Email: hayniemchan2@gmail.com

Abstrak

Dewasa ini, penelitian tentang sensor mulai banyak dikembangkan dalam bidang kesehatan terutama dalam hal analisis klinis. Sensor urea merupakan salah satu contoh aplikasi sensor yang dikembangkan dalam bidang analisis klinis. Sampai saat ini, pada umumnya analisis klinis dengan sampel darah atau urin masih terbatas dilakukan di laboratorium sentral rumah sakit yang dilengkapi dengan peralatan canggih, dilakukan oleh petugas yang terdidik dalam, serta memerlukan biaya yang relatif tidak murah. Dengan adanya sensor urea yang dinilai lebih efektif, efisien dan ekonomis diharapkan dapat membantu masyarakat dalam hal skrining awal adanya kerusakan pada ginjal. Sensor urea mampu mendeteksi kadar urea dalam darah sehingga dapat dijadikan sebagai skrining awal adanya kerusakan pada ginjal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui reagen asam terbaik dalam pembuatan sensor urea. Pembuatan sensor urea dilakukan dengan mengintegrasikan reagen *Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide* dengan reagen asam pada sebuah material pendukung berupa plat silika gel. Penelitian tentang pemeriksaan kadar urea dalam darah telah banyak dilakukan seperti pada Fearon (1939), Rahmatullah dan Boyde (1980), serta Coulombe dan Feavru (1963), namun penelitian-penelitian ini masih terbatas dilakukan dalam bentuk larutan. Sensor urea yang mampu mendeteksi urea dalam sampel akan memberikan informasi dengan adanya perubahan warna yang menunjukkan bahwa terdapat urea dengan kadar tertentu dalam sampel tersebut. Warna yang dihasilkan oleh sensor akan dianalisis nilai RGBnya menggunakan *Adobe Photoshop CS5* untuk mengetahui intensitas warna yang dihasilkan. Dalam penelitian yang telah kami lakukan didapatkan jenis reagen asam terbaik yang digunakan dalam pembuatan sensor adalah asam fosfat dan asam sulfat. Dimana dengan adanya kombinasi kedua asam ini akan menghasilkan nilai $\Delta Mean$ RGB sebesar 97,89 dengan waktu respon mulai terbentuknya warna adalah 3 menit 12 detik dan kestabilan warna yang didapatkan adalah 5 hari.

Kata Kunci: sensor urea, *diacetyl monoxime*, *thiosemicarbazide*, asam sulfat, asam fosfat, RGB

I. PENDAHULUAN

Penelitian sensor sampai saat ini masih merupakan suatu topik yang sangat luas dan melibatkan berbagai disiplin ilmu. Aplikasi dari teknologi sensor sendiri dapat ditemui dalam banyak bidang antara lain dalam bidang kesehatan dan analisis klinis. Sampai saat ini, pada umumnya analisis klinis dengan sampel darah atau urin masih terbatas dilakukan di laboratorium sentral rumah sakit yang dilengkapi dengan peralatan yang canggih, dilakukan oleh petugas yang terdidik, serta memerlukan biaya yang relatif tidak murah. Hal ini menyebabkan kesulitan besar bagi masyarakat yang tinggal dipedesaan dan jauh dari rumah sakit besar. Namun dengan kemajuan di bidang teknologi saat ini, dimungkinkan untuk melakukan analisis klinis menggunakan sensor yang dapat dilakukan di laboratorium ataupun puskesmas yang ada di desa-desa, lebih jauh lagi analisis atau pengukuran ini bisa dilakukan oleh si pasien sendiri.

Sensor urea merupakan salah satu contoh aplikasi sensor dalam bidang analisis klinis dan kesehatan. Sensor urea ini dapat digunakan untuk mendeteksi adanya urea dalam serum darah. Urea merupakan produk sisa hasil metabolisme protein yang diekskresikan melalui urin oleh ginjal. Urea dalam darah atau yang sering disebut dengan BUN (Blood Urea Nitrogen) dalam keadaan normal memiliki kadar 5-25 mg/dL. Peningkatan kadar urea dalam darah dapat disebabkan oleh meningkatnya aktivitas katabolisme protein jaringan, pemecahan protein yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya gagal ginjal (Shanmugam, 2010). Gagal ginjal terjadi ketika ginjal tidak mampu lagi mengangkut hasil metabolisme tubuh atau melakukan fungsi regulernya dalam hal filtrasi. Pada penderita gagal ginjal yang parah dapat mengalami komplikasi seperti stroke, jantung koroner, dan penyakit pembuluh darah perifer. Berdasarkan data mortality WHO South East Asia Region pada tahun 2010-2012 penderita penyakit gagal ginjal terdapat 250.217 jiwa (WHO, 2013). Sedangkan di Indonesia pada tahun 2009 tercatat sebanyak 5.450, tahun 2010 sebanyak 8.034 penderita, pada tahun 2011 meningkat sebanyak 12.804 penderita, dan pada tahun 2012 meningkat menjadi 24.141 penderita (Indonesia Renal Registry, 2012).

Metode penentuan kadar urea dalam darah ini telah dikembangkan sejak jaman dahulu kala, akan tetapi pada masa itu pemeriksaannya masih terbatas dilakukan di laboratorium dengan penggunaan reagen-reagen tertentu. Metode penentuan urea yang

ditemukan oleh Fearon dan dalam penelitiannya Feraon menggunakan urea yang direaksikan dengan diasetil pada suasana asam kuat akan menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah muda. Namun banyak kekurangan dalam metode ini seperti reaksi yang terjadi dalam medium asam kuat yang dapat mengalami pembentukan *hidroxylamine* yang dapat menurunkan sensitivitas analisis dan kestabilan warna yang dibentuk. Berbagai variasi reagen asam telah diuji dalam reaksi untuk efektivitasnya dalam menghilangkan *hydroxylamine* seperti dalam penelitian Rahmatullah (1980).

Berdasarkan alasan-alasan yang sudah dipaparkan diatas, dilakukan variasi reagen asam guna mengetahui jenis reagen asam terbaik yang kemudian diimmobilisasikan secara adsorpsi pada plat silka gel. Sehingga didapatkan sebuah sensor urea yang memiliki kestabilan warna yang tinggi dan dapat memenuhi kebutuhan masyarakat akan piranti kesehatan yang murah, efektif dan efisien dalam hal pemeriksaan kadar urea dalam darah. Sensor yang dibuat pada penelitian ini dapat mendeteksi urea dari perubahan warna yang ditimbulkan saat sampel yang berupa larutan urea diteteskan pada plat yang telah terimmobil reagen *Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide* dan reagen asam. Sementara warna yang dihasilkan dianalisis secara digital berdasarkan model warna RGB.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan-Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah urea, diacetyl monoxime, thiosemicarbazide, $FeCl_3$, asam sulfat, asam fosfat, asam asetat, asam klorida serta plat silika gel sebagai matriks.

B. Pembuatan Reagen Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide (Shanmugam, 2010)

Diacetyl monoxim, dan Tiosemikarbazidamasing-masingditimbang sebanyak 0,1 gram dan 0,02gram. Kedua bahan dicampur dan dilarutkan ke dalam 50 mL aquades di beaker glass 100 mL. Larutan dipindahkan ke labu takar 100 mL lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

C. Pembuatan Reagen Asam

Reagen asam terdiri dari 3 variasi, yaitu asam fosfat-asam sulfat, asam fosfat-asam asetat, dan asam sulfat-asam klorida. Asam fosfat (H_3PO_4) dan asam sulfat (H_2SO_4) pekat masing-masing dipipet sebanyak 1 mL dan 6 mL ke dalam beaker glass 100 mL lalu ditambahkan 75 mL aquades. Campuran tersebut didinginkan dan ditambahkan 0,1 mL larutan FeCl_3 . Larutan diencerkan dengan aquades di labu takar 100 mL sampai tanda batas dan dihomogenkan. Dilakukan langkah yang sama pada jenis variasi reagen asam yang lain.

D. Immobilisasi Reagen Diacetyl monoxime-Thiosemicarbazide dan Reagen Asam pada Plat Silika Gel dalam Pembuatan Sensor Urea secara Adsorpsi

Dilakukan terlebih dahulu penentuan jenis reagen asam terbaik dengan prosedur sebagai berikut; disiapkan plat silika gel ukuran 2×2 cm yang telah diketahui beratnya. Disiapkan reagen identifikasi urea sebanyak 30 mL yang merupakan campuran reagen DAM-TSC (15 mL) dan reagen asam H_2SO_4 dan H_3PO_4 (15 mL). Diimmobilisasikan reagen identifikasi urea tersebut ke atas plat silika gel dengan teknik adsorpsi terbaik lalu plat ditimbang dengan neraca analitik. Dikeringkan plat silika gel yang telah terimmobilisasi reagen identifikasi urea dengan teknik pengeringan terbaik, lalu plat silika gel ditimbang dengan neraca analitik. Ditetesi plat dengan setetes sampel larutan urea menggunakan pipa kapiler. Plat didiamkan kemudian dipanaskan dengan waktu pemanasan terbaik dan dihitung waktu bercak warna mulai terlihat serta diamati kejelasan dan kestabilan dari bercak warna yang tersebut. Reagen DAM-TSC dan reagen asam akan membentuk warna merah muda dengan urea. Diulangi prosedur di atas dengan reagen asam lain yaitu CH_3COOH dan H_3PO_4 , HCl dan H_2SO_4 . Jenis reagen asam terbaik diperoleh dengan membandingkan waktu bercak warna merah muda mulai terbentuk pada masing-masing plat, kejelasan dan kestabilan dari bercak warna tersebut. Dihitung dan diidentifikasi jumlah zat cair yang teruapkan pada plat silika gel dari masing-masing perlakuan. Prosedur di atas diulangi sebanyak tiga kali pengulangan pada masing-masing jenis reagen asam.

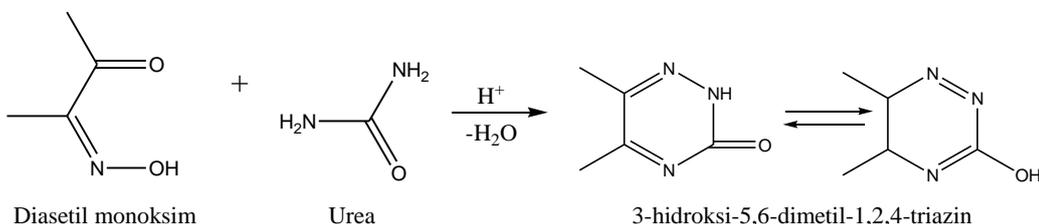
E. Analisis Data

Jenis reagen asam terbaik dalam pembuatan sensor urea pada plat silika gel dapat diketahui dengan analisa waktu respon warna mulai terbentuk, waktu warna mulai

pudar, kestabilan warna dan kejelasan warna yang terbentuk pada plat silika gel yang terimmobil reagen identifikasi urea, serta hasil dari nilai $\Delta Mean$ RGB. Analisa kejelasan warna dilakukan dengan mencari nilai RGB menggunakan *adobe photoshop CS5* yang kemudian nilainya dikonversikan ke $\Delta Mean$ RGB menggunakan *microsoft excel 2010*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan sensor kimia untuk mendeteksi adanya urea yang telah dilakukan pada penelitian ini untuk mengembangkan metode konvensional analisis urea secara spektrofotometri menggunakan reagen diasetil monoksim dan tiosemikarbazida (DAM-TSC). Sensor urea dibuat dengan cara mengintegrasikan reagen DAM-TSC dan reagen asam pada suatu padatan pendukung atau matriks. Pemeriksaan urea dengan sensor urea berdasarkan prinsip kolorimetri, yaitu adanya perubahan warna. Prinsip dari metode ini adalah reaksi kondensasi dimana diasetil monoksim dihidrolisis dibawah kondisi asam untuk menghasilkan diasetil yang kemudian bereaksi dengan urea membentuk warna kuning. Berdasarkan hasil studi dari Rosita dan Lugosi (1972) serta Beale dan Croft (1961) reaksi antara diasetil monoksim dan urea akan menghasilkan senyawa 3-hidroksi-5,6-dimetil-1,2,4,-triazin. Dimana reaksi yang terjadi adalah:



Gambar 1. Reaksi kondensasi diasetil monoksim dan urea menghasilkan 1,2,4-triazin

Untuk membentuk senyawa kompleks berwarna merah muda, urea dan diasetil monoksim direaksikan dengan reagen pengembang warna, yaitu tiosemikarbazida dan $FeCl_3$. Berdasarkan penelitian Ratnam dan Anipindi (2012) mengenai studi terhadap mekanisme dan laju reaksi oksidasi tiosemikarbazida, semikarbazida dan hidroksilamin dengan $Fe(III)$ serta adanya triazin (triazin yang digunakan merupakan berbagai senyawa 1,2,4-triazin tersubstitusi) kemungkinan senyawa kompleks yang terbentuk berdasarkan adalah sebagai berikut:



Penggunaan jenis reagen asam yang tepat sangat berperan penting dalam proses pembuatan sensor urea guna didapatkan warna kompleks merah muda yang lebih stabil dan memiliki stabilitas yang tinggi. Dari hasil penelitian Favreau dan Coloumbe (1963) yang menggunakan campuran asam sulfat, asam klorida dan asam fosfat sebagai reagen asamnya menyatakan bahwa penggunaan asam sulfat sendiri dengan konsentrasi optimum dapat meningkatkan stabilitasnya sebesar 25-30%. Sedangkan menurut Boyde dan Rahmatullah (1980) penggunaan reagen asam yang sangat kuat akan menurunkan stabilitas dari warna kompleks yang terbentuk, begitu pula sebaliknya dimana penggunaan reagen asam lemah dapat menurunkan intensitas warna kompleks yang terbentuk. Dalam hal ini kami mencoba untuk memvariasikan penggunaan jenis reagen asam guna didapatkan sensor urea yang memiliki kestabilan warna, sehingga pendeteksian urea dapat diketahui dengan terbentuknya warna merah muda secara optimal.

Variasi reagen asam yang kita gunakan dalam penelitian ini, yaitu asam fosfat (H_3PO_4)-asam asetat (CH_3COOH), asam fosfat (H_3PO_4)-asam sulfat (H_2SO_4) dan asam sulfat (H_2SO_4)-asam klorida (HCl). Pemilihan jenis reagen asam ini kami pilih berdasarkan kekuatan asam, guna mengetahui pengaruhnya terhadap warna kompleks yang terbentuk dan stabilitasnya. Penentuan jenis reagen asam terbaik didasarkan pada penentuan jumlah zat cair yang teruapkan dari masing-masing variasi reagen asam dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah zat cair yang teruapkan dari plat silika gel yang terimmobil reagen identifikasi urea dari masing-masing reagen asam, yang kemudian dilanjutkan dengan pengamatan terhadap waktu respon ketika mulai berubah warna, waktu kestabilan kompleks, warna kompleks yang terbentuk dan nilai $\Delta Mean$ RGB.

Adapun hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh dari masing-masing variasi reagen asam dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwasannya untuk reagen asam fosfat dan asam asetat terbentuk warna merah muda yang sangat lemah dengan waktu respon 9 menit 50 detik dengan nilai $\Delta Mean$ RGB paling rendah. Untuk penggunaan jenis reagen asam kedua, yaitu asam sulfat dan asam klorida, warna merah muda yang dibentuk tidak terlalu kuat dengan waktu responnya adalah 5 menit 10 detik dengan nilai $\Delta Mean$ RGB sebesar 85,5. Sedangkan pada jenis asam ketiga yaitu

asam fosfat dan asam sulfat terbentuk warna merah muda yang sangat kuat dibandingkan pada variasi kedua asam sebelumnya dan waktu responnya adalah 3 menit 12 detik dengan nilai $\Delta Mean$ RGB paling tinggi yaitu 97,89. Ditinjau dari kejelasan warna yang terbentuk, waktu respon dan nilai $\Delta Mean$ RGB dapat disimpulkan bahwa jenis reagen asam terbaik adalah pada asam sulfat dan asam fosfat. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan Coulombe dan Favreu dalam Rho (1980) bahwa penggunaan asam kuat akan memberikan hasil warna yang lebih tinggi dibandingkan dengan asam lemah, akan tetapi dengan pencampuran kedua jenis asam tersebut, warna yang dihasilkan akan jauh lebih baik dari pada hanya menggunakan salah satu jenis asam. Selain itu dalam penelitian Ratnam dan Anipindi (2012) tentang pembentukan senyawa kompleks pada senyawa Fe(III) dengan triazin disebutkan bahwa penggunaan asam fosfat akan meningkatkan kemampuan oksidasi dari Fe(III) dalam membentuk kompleks dengan triazin.

Tabel 1. Hasil pengamatan dari masing-masing variasi jenis reagen asam

Reagen Asam	Warna Kompleks	Waktu Respon	$\Delta Mean$ RGB
Asam fosfat dan asam asetat		9 menit 50 detik	76,22
Asam klorida dan asam sulfat		5 menit 10 detik	85,5
Asam fosfat dan asam sulfat		3 menit 12 detik	97,89

IV. KESIMPULAN

Jenis reagen asam terbaik yang digunakan dalam pembuatan sensor urea adalah asam fosfat dan asam sulfat. Dengan menggunakan kedua asam ini akan menghasilkan waktu respon yang lebih cepat yaitu 3 menit 12 detik dan nilai $\Delta Mean$ RGB sebesar 97,89.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2012. Data Penderita Gagal Ginjal berdasarkan Indonesia Renal Registry. <http://pernefri-inasn.org/Laporan/4thAnnualReportOfIRR>. Diakses 12 Juli 2014.
- Anonim. 2013. Data Penderita Gagal Ginjal berdasarkan WHO. <http://www.academia.edu/6834088/>. Diakses 12 Juli 2014.
- Beale R.N, Croft D. A Sensitive Method for the Colorimetric Determination of Urea. *J Clin Pathol*. 1961 Jul;14:418–424.
- Coulombe JJ, favreau L. 1963 A New Simple Semimicro Method for Colorimetric Determination of Urea. *Clin Chem* :102–108.
- Rahmatullah, M dan T.R.C. Boyde. 1980. Improvements in The Determination of Urea Using Diacetyl Monoxime; Method with and Without Deproteinisation. *Clinical Chimica Acta*. 107: 3-9
- Ratnam, S dan Anipindi, N. R. 2012. Kinetic and Mechanistic Studies on the Oxidation of Hydroxylamine, Semicarbazide, and Thiosemicarbazide by Iron(III) in the Presence of Triazines. *Transition Met Chem*. 37:453–462Rahmatullah (1980)
- Rosita, Yu Si Tan dan Lugosi. 1972. Reaction of Urea with Diacetyl Monoxime and Diacetyl. University of Windsor.
- Shanmugam, S., dkk. 2010. *Laboratory Handbook on Biochemistry*. New Delhi: PHI Learning Private Limited

OPTIMASI HIDROKSIPROPIL METILSELULOSA DAN NATRIUM ALGINAT SEBAGAI POLIMER PADA TABLET KOMBINASI *FLOATING MUCOADHESIVE* TEOFILIN

Eka Deddy Irawan, Santy Yulia Subekti, dan Lusia Oktora Ruma Kumala Sari
Fakultas Farmasi Universitas Jember,
Jalan Kalimantan I/2 Jember 68121
Email : irawan_ed@yahoo.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mencari komposisi optimal dari hidroksi propil metil selulosa (HPMC) K4M (A) dan natrium alginat (B) dalam pembentukan kemampuan *gastroretentive* tablet teofilin. Tablet dibuat menggunakan granulasi basah. Metode optimasi yang digunakan adalah desain faktorial. Empat formula yang dipersiapkan terdiri dari : F1 (10% A & 10% B), F2 (20% A & 10% B), F3 (10% A & 30% B), dan F4 (20% A & 30% B). Kemampuan *floating*, *mucoadhesive*, dan *swelling* diteliti sebagai respon. HPMC adalah faktor yang paling berpengaruh pada singkatnya *floating lag time* dan besarnya peningkatan ukuran tablet. Natrium alginat adalah faktor yang paling berpengaruh pada peningkatan kekuatan *mucoadhesive* tablet. HPMC dan natrium alginat sama berkontribusi-nya pada *floating duration time* dari tablet. Formula optimal diperoleh dengan komposisi 10-20% HPMC dan 24,013-30% natrium alginat. Kinetika pelepasan teofilin dari formula optimum mengikuti orde nol, nilai DE_{480} sebesar 54,023% dan tablet dapat melepaskan 100% teofilin pada jam ke 16,967

Kata Kunci: *floating*, *mucoadhesive*, HPMC, Na alginat

I. PENDAHULUAN

Teofilin merupakan obat paling efektif untuk meningkatkan kapasitas vital paru-paru, namun beberapa sifat farmakokinetiknya dapat meningkatkan kerentanan terjadinya fluktuasi kadar dalam plasma dan dapat menimbulkan efek samping (Louisa dan Dewoto, 2008). Berdasarkan hal tersebut maka teofilin lebih baik dibentuk sebagai sediaan lepas lambat. Sediaan *Gastroretentive Drug Delivery System (GRDDS)* adalah sediaan lepas lambat dengan cara memperpanjang waktu tinggal di lambung. GRDDS yang telah banyak dikembangkan adalah sistem *floating* dan *mucoadhesive*. Sistem *floating* dan sistem *mucoadhesive* memiliki kekurangan masing-masing, maka timbul suatu pemikiran untuk mengkombinasi kedua sistem. Tablet GRDDS dengan sistem

kombinasi *floating mucoadhesive* akan bertahan secara maksimal di lambung dalam keadaan apapun. Bila tablet dikonsumsi saat lambung terisi penuh maka tablet akan dapat mengapung. Bila tablet dikonsumsi saat lambung berada pada fase pengosongan lambung, tablet akan menempel pada dinding lambung sehingga tidak akan langsung ikut masuk ke *pylorus*.

Kemampuan *floating sekaligus mucoadhesive* pada tablet GRDDS dapat diperoleh dengan penggunaan polimer yang tepat, yaitu polimer yang mudah mengembang serta dapat membentuk perlekatan yang kuat dengan mukosa lambung. HPMC K4M merupakan polimer yang baik dalam membentuk gel (*pH independent*) dan mengembang, namun HPMC tidak mudah terbasahi, serta larut dalam pH asam (Barhate *et al.*, 2011). Beberapa kekurangan HPMC tersebut dapat ditutupi oleh sifat yang dimiliki natrium alginat (na alginat), selain itu na alginat dapat membentuk perlekatan yang kuat dengan mukus. Kedua polimer dioptimasi menggunakan metode desain faktorial.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Teofilin (Jilin Shulan Synthetic Pharmaceutical co.,LTD.); HPMC K4M (Shinetsu Chemical co.); Na alginat (Valmar International); NaHCO₃ (Tjiwi Kimia); Mg stearat (DMV-Fanterra Excipients); Laktosa (Friesland foods.co,LTD); Etanol 95%; HCl 0,1 N; KCl, Lambung kelinci dewasa jantan (6-8 bulan), dan Aquadestilata.

B. Alat

Timbangan analitik Ohaus (AdventurerTM), alat pencampur manual (mortir dan stamper), ayakan 60 dan 80, alat pencetak tablet (*Single Punch*, Healthy), alat uji kekerasan tablet (Stokes-Monsato *Hardness Tester*), alat uji kerapuhan tablet (*Friability Tester* tipe TAB,Pharmeq), Mikropipet 1-100 μ L (Pipetman, Gilson), Mikropipet 100-1000 μ L (Pipetman, Gilson), alat uji disolusi tipe 2 (jenis dayung, Pharmeq), spektrofotometer (Genesys 10S), pH meter (Ep Hanna), *Ultrasonic Cleaner* (Elmasonic E 30H), papan penyokong dan *push pin*, pengkait, anak timbangan (beban), alat-alat gelas, kertas saring, perangkat lunak (software) *Design Expert* 8.0.2 sebagai program pengolah data.

C. Pembuatan Tablet *Floating Mucoadhesive*

Teofilin, HPMC K4M, Na alginat, Na bikarbonat dan Laktosa dihaluskan masing-masing, kemudian campur selama 25 menit, tambahkan bahan pembasah (etanol 95%) dengan cara disemprotkan, basahi sambil aduk campuran bahan sampai terbentuk massa granul (Jin *et al.*, 2008). Massa granul diayak dengan ayakan 60, granul hasil ayakan kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 60 °C selama 30 menit. Granul yang telah kering kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 80, granul hasil ayakan kemudian dimasukkan ke dalam suatu wadah untuk kemudian dicampur dengan Mg stearat, campur bahan-bahan tersebut sampai homogen 2-5 menit. Campuran granul dikompresi menjadi tablet dengan bobot tiap tablet 700 mg.

Tabel 1.Formula tablet *floating mucoadhesive* teofilin

Bahan	F1	F2	F3	F4
Teofilin	260 mg	260 mg	260 mg	260 mg
HPMC K4M	70 mg	140 mg	70 mg	140 mg
Na alginat	70 mg	70 mg	210 mg	210 mg
NaHCO ₃	77 mg	77 mg	77 mg	77 mg
Laktosa	212,5 mg	142,5mg	72,5 mg	2,5 mg
Mg stearat	10,5 mg	10,5 mg	10,5 mg	10,5 mg
Alkohol 95%	0,48 mL	0,48 mL	0,48 mL	0,48 mL
Bobot tablet	700 mg	700 mg	700 mg	700

D. Evaluasi Kemampuan *Mucoadhesive*

Terdiri dari 3 macam uji: Uji kemampuan *floating*, *mucoadhesive*, dan *swelling*. Terdapat 2 macam uji kemampuan *floating*, yaitu lamanya waktu yang dibutuhkan tablet untuk muncul ke permukaan sehingga dapat mengapung (*floating lag time*) (FDT) dan durasi / lamanya tablet mampu mengapung (*floating duration time*) (FLT) (Sheth, 2011). Tablet dimasukkan ke dalam 200 mL dapar HCl pH 1,2 suhu $37 \pm 0,5$ °C dan dihitung waktu tablet untuk dapat naik sampai ke permukaan dan mengapung (replikasi sebanyak 6 kali). *Floating lag time* yang diinginkan antara 25-600 detik dan *floating duration time* tidak kurang dari 12 jam (Sheth, 2011).

Pada pengujian kekuatan *mucoadhesive* tablet dibutuhkan lambung kelinci segar yang telah dilembabkan dengan cairan dapar HCl pH 1,2 (Rajput *et al.*, 2010). Tablet diletakkan di atas jaringan lambung, diberi beban 5 gram dan dibiarkan kontak sampai 5

menit. Tablet ditarik dari mukus dengan menggunakan beban secara bertahap (1 gram tiap penambahannya) penambahan beban dilakukan dengan interval tiap 5 detik. Masa beban yang mampu menarik tablet dari jaringan dicatat. Replikasi dilakukan sebanyak 6 kali untuk masing-masing formula (Irawan dan Farhana, 2011). Kekuatan *mucoadhesive* yang diinginkan adalah 15-30 gram.

Diinginkan sediaan dapat mengembang 80-150% dari ukuran semula. Dengan demikian ukuran sediaan akan lebih besar daripada diameter *pylorus*.

E. Analisis Data dan Penentuan Formula Optimum

Data respon yang diperoleh dianalisis dan ditentukan daerah optimumnya menggunakan metode desain faktorial dengan bantuan perangkat lunak (software) *Design Expert* 8.0.2 sebagai program pengolah data. Daerah optimum yang dimaksud merupakan daerah yang memenuhi rentang faktor dan kriteria respon dari analisis desain faktorial.

F. Pengujian Tablet *Floating Mucoadhesive* Teofilin Formula Optimum

Formula optimum yang diperoleh dari hasil analisis diuji kemampuan *gastroretentive*-nya serta kemampuan melepas teofilin dari matriknya dan dinyatakan dalam DE (Efisiensi Disolusi). Penentuan ini dilakukan dengan menggunakan peralatan tipe II (konstruksi dayung, 50 rpm), medium dapar HCl pH $1,2 \pm 0,05$ (USPC, 2006), sebanyak 900 mL dan suhu diatur pada $37 \pm 0,5$ °C dilakukan selama 8 jam. Pengambilan sampel dilakukan saat 0 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, 90 menit, 120 menit, 180 menit, 240 menit, 300 menit, 360 menit, 420 menit dan 480 menit.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dapat dilihat pada Tabel 2, hasil pengujian kemampuan FLT menunjukkan urutan kecepatan mengapung tablet adalah: F4>F2>F3>F1. Semakin banyak jumlah HPMC K4M maka semakin besar kemampuan FLT-nya. HPMC K4M memiliki kemampuan membentuk gel yang baik tanpa dipengaruhi oleh kondisi pH (Barhate *et al.*, 2011), sehingga saat tablet kontak dengan cairan lambung maka HPMC K4M akan segera membentuk gel penghambat. Dalam suasana asam Na alginat tidak dapat membentuk gel dengan cepat (Jin *et al.*, 2008), sehingga Na alginat tidak memberikan pengaruh

yang cukup besar pada FLT tablet, namun Na alginat memiliki kemampuan terbasahi yang lebih baik daripada HPMC K4M sehingga mampu meningkatkan kemampuan terbasahi HPMC K4M (Barhate *et al.*, 2011). Hal ini menjelaskan perbedaan FLT F3 yang jauh lebih cepat daripada F1. HPMC K4M akan lebih cepat terbasahi bila dikombinasikan dengan Na alginat (Barhate *et al.*, 2011). Pada Tabel 3, dapat dilihat hasil analisis *design expert 8.0.2* juga menunjukkan HPMC lebih berkontribusi terhadap kecepatan FLT daripada Na alginat.

Tabel 2. Hasil pengujian kemampuan gastroretentive tablet.

	FLT (detik)*	FDT (Jam)*	Kekuatan <i>Mucoadhesive</i> (gram)*	<i>Swelling Index</i> (%)*
1	607,833 ± 7,627	3,833 ± 0,186	7,391 ± 0,516	24,618 ± 2,625
2	81,667 ± 2,160	> 12 ± 0	10,39 ± 0,516	122,446 ± 4,755
3	303,833 ± 7,414	> 12 ± 0	15,058 ± 0,634	101,202 ± 8.343
4	5,667 ± 0,517	> 12 ± 0	18,2247 ± 1,602	140,350 ± 3,422

*) Data disajikan sebagai rerata ± simpangan baku (n = 6)

Tabel 3. Tabel nilai efek faktor terhadap respon (hasil analisis menggunakan *design expert*)

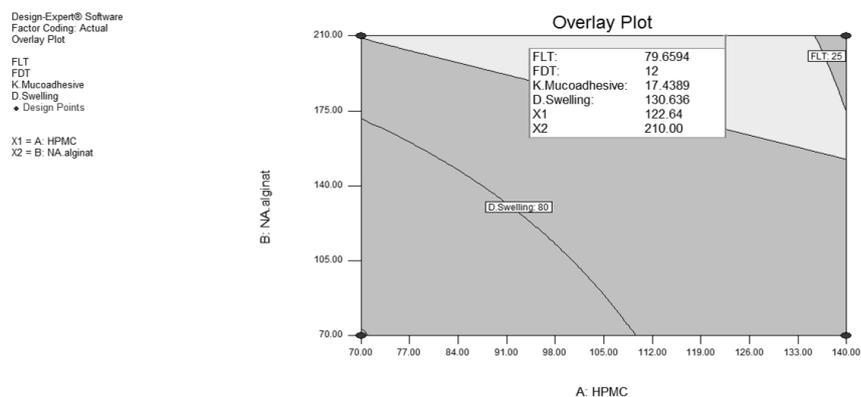
Respon	HPMC K4M	Na alginat	Efek Interaksi
FLT	-412,16	-190,00	114,00
FDT	4,10	4,10	-4,10
Kekuatan <i>Mucoadhesive</i>	3,08	7,75	0,084
Kemampuan <i>Swelling</i>	68,49	47,24	-29,34

Pada uji FDT semua formula dapat bertahan mengapung di atas permukaan dapur selama lebih dari 12 jam, kecuali F1. Hal ini disebabkan oleh konsentrasi HPMC K4M dan Na alginat yang kecil, HPMC K4M dapat larut secara perlahan pada suasana asam, sedangkan Na alginat tidak larut pada larutan asam (Barhate *et al.*, 2011). Dari hasil analisis *design expert 8.0.2* pada Tabel 3, menunjukkan HPMC dan Na alginat sama berkontribusinya pada pembentukan FDT.

Hasil evaluasi kekuatan *mucoadhesive* pada Tabel 2 menunjukkan urutan kemampuan *mucoadhesive* tablet yaitu $F1 < F2 < F3 < F4$. Terdapat beberapa faktor yang sangat menentukan kemampuan *mucoadhesive* dari suatu polimer antara lain gugus fungsi polimer, kemampuan terbasahi, muatan polimer, dan jumlah polimer (Andrews *et al.*, 2009). Na alginat memiliki banyak gugus hidrofilik sehingga lebih mudah terbasahi. Kemampuan *mucoadhesive* HPMC K4M lebih lemah daripada Na alginat. Dari hasil analisis *design expert 8.0.2* pada Tabel 3, menunjukkan Na alginat lebih berkontribusi pada peningkatan kekuatan *mucoadhesive*.

Hasil pengujian yang diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan daerah optimum, percobaan ini menghasilkan 24 formula optimum. Komposisi Na alginat yang dapat digunakan untuk memperoleh formula optimum adalah antara 168,19 mg sampai 210 mg sedangkan HPMC K4M antara 70 mg sampai 140 mg.

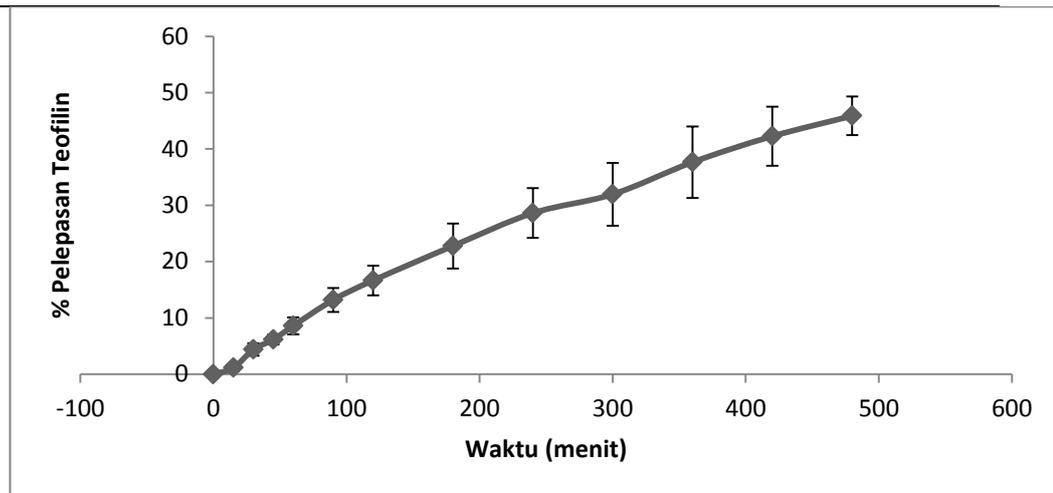
Gambar 1 merupakan *overlay plot* dari komposisi optimum yang terpilih. Hasil pengujian kemampuan *gastroretentive* tablet formula optimum dapat dilihat pada Tabel 4. Terdapat sedikit perbedaan pada hasil respon, namun perbedaan tersebut tidak terlalu besar serta masih memenuhi kriteria respon yang diinginkan.



Gambar 1. *Overlay plot* daerah optimum yang terpilih.

Tabel 4. Hasil prediksi dan uji kemampuan FLT, FDT, kekuatan *mucoadhesive*, dan kemampuan *swelling* tablet formula optimum

Respon	Hasil Prediksi	Hasil Uji
FLT (detik)	79,6289	78,5 ± 4,13
FDT (jam)	>12	>12 ± 0
kekuatan <i>mucoadhesive</i> (gram)	17,4392	17,4018 ± 1,0
kemampuan <i>swelling</i> (%)	130,64	130,2485 ± 4,20



Gambar 2. Profil pelepasan teofilin dari tablet formula optimum.

Hasil pengujian disolusi dapat dilihat pada Gambar 2. Terlihat bahwa tablet formula optimum mampu menahan pelepasan teofilin dari matriks hingga lebih dari waktu pengujian (8 jam), untuk itu perlu dilakukan perhitungan secara teoritis yaitu menggunakan perhitungan nilai DE.

Tabel 5. Hasil analisis kinetika pelepasan teofilin dari tablet formula optimum

Nilai r			
r tabel (n=10)	Orde nol	Orde satu	Higuc hi
r = 0,497	r = 0,991	r = 0,847	r = 0,987

Selain nilai DE, profil pelepasan juga digunakan untuk menentukan model kinetika pelepasan teofilin dari tablet. Penentuan model kinetika dilakukan dengan membandingkan nilai koefisien korelasi (r) hasil analisis dengan nilai koefisien (r) tabel.

Nilai r yang lebih besar dari nilai r tabel menunjukkan model kinetika yang diikuti oleh pelepasan formula optimum (Suprpto dan Setiadi, 2010). Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa nilai r yang paling besar adalah nilai r yang diperoleh dari kurva hubungan pelepasan teofilin terhadap waktu (orde nol), hal ini menandakan bahwa pelepasan obat didominasi oleh mekanisme erosi.

IV. KESIMPULAN

Formula optimal diperoleh dengan komposisi 10-20% HPMC dan 24,013-30% natrium alginat. Kinetika pelepasan teofilin dari formula optimum mengikuti orde nol, nilai DE_{480} sebesar 54,023% dan tablet dapat melepaskan 100% teofilin pada jam ke 16,967.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, G. P., Lavery, T. P., dan Jones, D. S. 2009. Mucoadhesive Polymeric Platforms for Controlled Drug Delivery. *Europ. J. Pharm. & Biopharm.*, Vol. 71: 505-518.
- Barhate, A. L., Shinde, S. N., Sali, S. M., Ingale, D. K., Choudari, V. P., dan Kuchekar, B. S. 2011. Fabrication of Controlled Release Metoprolol Succinate Matrix Tablet: Influence of Some Hydrophilic Polymers on the Release Rate and In Vitro Evaluation. *Int. J. Phar. World Res.*, Vol.1 (2): 1-15.
- Charvalo, F. C., Bruschi, M. L., Evangelista, R. C., dan Gremiao, M. P. D. 2010. Mucoadhesive Drug Delivery System. *Brazilian J. Pharm. Sci.*, Vol. 46 (1): 1-17.
- Ibezim, E. C., Attama, A. A., Obitte, N. C., Onyishi, V. I., dan Brown, S. A. 2008. In vitro Prediction of in vivo Bioavailability and Bioequivalence of Brands of Metronidazole Tablets in Eastern Nigerian Drug Market. *Sci. Res. and Essay*. Vol. 3 (11): 552-558.
- Indrawati, T., Agoes, G., Yulinah, E., dan Cahyati, Y. 2005. Uji Daya Lekat Mukoadhesif secara In Vitro beberapa Eksipien Polimer Tunggal dan Kombinasinya pada Lambung dan Usus Tikus. *Jurnal Matematika and Sains*. Vol. 10 (2): 45-51.
- Irawan, E. D., dan Farhana. 2011. Optimasi Chitosan dan Natrium Karboksimetilselulosa sebagai Sistem Mucoadhesive pada Tablet Teofilin. *Majalah Farmasi Indonesia*, Vol. 22 (2): 92-97.

- Jin. X., Zhang. Y., Xiao, L., dan Zhao, Z. 2008. Optimization of Extended Zero-order Release Gliclazide Tablets Using D-Optimal Mixture Design. Regular Article Yakugaku Zasshi, Vol. 128 (10): 1475 – 1483.
- Kavanagh, N., dan Corrigan, O. I. 2004. Swelling and Erosion Properties of Hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose) Matrices—influence of Agitation Rate and Dissolution Medium Composition. Int. J. Pharm., Vol. 279 (2004): 141–152.
- Louisa, M. dan Dewoto, R. 2008. Perangsang Susunan Saraf Pusat. Dalam Syarif, A., *et al.* Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Mandal, S., Ratan, G. N., Mulla, J. S., Thimmasetty, J., dan Kaneriya. A. 2010. Design and In Vitro Evaluatin of Gastro Retentive Sustained Release Tablet of Tizanidine Hydrochloride. Indian J. Novel Drug Del., Vol. 2 (4): 144-152.
- Rajput, G. C., Majmudar, F. D., Patel J.K., Patel K.N., Thakor, R.S., Patel B.P., dan Rajgor, N. B. 2010. Stomach Specific Mucoadhesive Tablets As Controlled Drug Delivery System – A Review Work. Int. J. Pharm. and Bio. Res., Vol. 1 (1): 30-41.
- Sheth N.S. 2011. Formulation and Evaluation of Floating Drug Delivery System. Int. J. Pharm. and Bio. Sci., Vol. 2 (1): 571-580.
- Siegel, R. A. dan Rathbone, M. J. 2012. Overview of Controlled Relelase Mechanisms. Dalam Siepmann, J., *et al.* Fundamental and Applications of Controlled Release Drug Delivery. Eds.8: p19-43.
- Suprpto dan Setiyadi, G. 2010. Formulasi Sediaan Tablet Matrik Sustained Release Teofilin: Studi Optimasi Pengaruh Tekanan Kompresi and Matrik Etilselulosa and HPMC dengan Model Factorial Design. Jurnal Penelitian Sains & Teknologi, Vol. 11 (2): 100-116.
- The United States Pharmacopeial Convention (USPC), 2009. USP32-NF27. [CD-ROM].

PEMBELAJARAN INTERPROFESI KESEHATAN ANTARA DOKTER, APOTEKER, DAN PERAWAT DALAM MEMECAHKAN MASALAH TERAPI OBAT PADA LAPORAN KASUS UNTUK MENINGKATKAN KEAMANAN PASIEN: PILOT STUDI PADA MAHASISWA APOTEKER

Made Ary Sarasmita
Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali
Email: arysarasmita@yahoo.com

Abstrak

Paradigma *Pharmaceutical Care* menuntut peran Apoteker dalam memberikan asuhan kefarmasian kepada pasien. Apoteker bekerjasama dengan profesi dokter dan perawat untuk meningkatkan kualitas pelayanan, mengutamakan *Patient Safety* dan mengurangi insidensi *Medication Error* dan *Masalah Terkait Obat / Drug Related Problem (DRP)*. Untuk mendukung kerjasama tim kesehatan, dilakukan pembelajaran interprofesi kesehatan / *Interprofessional Education (IPE)* pada mahasiswa Profesi Apoteker. Mengevaluasi pelaksanaan pembelajaran IPE pada mahasiswa Profesi Apoteker Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Udayana dan mengidentifikasi *DRP* yang muncul dalam kasus pasien. Jenis penelitian deskriptif kuantitatif. Pembelajaran IPE diterapkan pada mahasiswa Profesi Apoteker Jurusan Farmasi Unud sebanyak 2 kali pertemuan per mahasiswa selama 2014-2015. Jumlah mahasiswa sebanyak 78 orang. Mahasiswa Apoteker terlibat dalam tim IPE bersama mahasiswa Pendidikan Dokter dan mahasiswa Keperawatan Fakultas Kedokteran Unud. Departemen yang dimasuki mahasiswa Farmasi yaitu Bagian Bedah, Anestesi, Anak, Penyakit Dalam, Saraf, Mata, THT, Obsgyn RSUP Sanglah Denpasar. Sebanyak 35 orang bersedia ikut dalam penelitian. Dilakukan pengambilan data melalui kuisioner terbuka dengan *consecutive sampling*. Dari 35 orang responden, 100% menyatakan setuju dengan diberlakukannya IPE pada mahasiswa Apoteker. Sebanyak 100% menyatakan IPE dapat berperan mengurangi terjadinya *Medication Error*. *DRP* yang muncul adalah interaksi obat potensial 40%; *potential Adverse Drug Reaction (ADR)* 22,8%; lama penggunaan obat 11,4%; salah terapi obat 8,5%; ketidaksesuaian bentuk sediaan 8,5%; ketidaksesuaian dosis dengan pustaka 5,7%; ada indikasi tanpa obat 2,9%; reaksi alergi 2,9%; kepatuhan 2,9%; dan ada obat tanpa indikasi 2,9%. Sebanyak 14,3% menyatakan tidak terdapat *DRP*. Pembelajaran IPE dapat diterima oleh mahasiswa Apoteker. Pembelajaran IPE mengurangi terjadinya *Medication Error*.

Kata Kunci: *interprofessional education, apoteker, medication error, drug related problem, masalah terapi obat*

I. PENDAHULUAN

Dalam praktek kefarmasian klinik dan komunitas, pelayanan terhadap pasien melibatkan berbagai profesi kesehatan seperti dokter, apoteker, perawat, ahli gizi dan lainnya. Berdasarkan penelitian Cullen *et al* (1997) menyebutkan setiap 100 jumlah pasien masuk rumah sakit, terjadi 2 (dua) *Medication Error* (ME) yang meningkatkan masa rawat pasien meningkat dan biaya pengobatan. *NHS National Patient Safety Agency* tahun 2007 menyebutkan terdapat 129.000 kasus kesalahan (error) pada pembedahan dan menimbulkan 271 kematian dan kerugian lebih dari 1.000 pasien. Data ECDC tahun 2008 menunjukkan sebanyak 5% ME dari seluruh jumlah rawat inap pasien terjadi karena *Adverse Drug Reaction* (ADR) dan menyebabkan kematian nomor 5 (lima) tertinggi pada pasien rawat inap. Kesalahan yang timbul dalam pengobatan antara lain duplikasi terapi dengan bahan aktif yang sama, kesalahan karena kemasan dan label yang mirip, kesalahan dosis, kesalahan cara atau rute pemberian dan kesalahan saat penyiapan obat.

Tabel 1. Persentase insidensi *Medication Error* dari beberapa penelitian (Ket. ¹Buckley (2007); ²Flynn (2002), ³Tissot, E (2003), ⁴Tang (2007), ⁵Colen (2003), ⁶Balas (2006))

	Buckley, 2007 N=15	Tang, 2007 N=72	Balas, 2006 N=127	Kopp, 2006 N=132	Wolf, 2006 N=1305	Prot, 2005 N=538	Handler, 2004 N=88	Colen, 2003 N=1077	Tissot, 2003 N=78	Flynn, 2002 N=457	Kapborg, 1999 N=37
	Persentase (%)										
Salah pasien	-	-	4,7	-	9,2	-	4,5	0	-	-	16,2
Salah obat	0	26,4	10,2	0	8,4	12	11,3	0,46	13	3,7	13,5
Salah dosis	26,7	36,1	20,5	12	17,2	15	19,3	1,0	12	18,4	51,4
Salah rute	0	8,3	3,9	0	3,6	19	-	0,19	-	1,3	-
Salah waktu/frekuensi	26,7	18,1	37,8	10	16,9	36	29,5	20,0	26	42,9	-
Salah bentuk sediaan	0	-	-	0	0,4	8	-	0,09	-	3,9	-
Salah cara pemberian	20	-	-	14	3,4	3	-	0,19	4	0,4	-

Untuk mengurangi insidensi terjadinya *Medication Error*, diperlukan kerjasama tim kesehatan yang paripurna. Hansten (1990) menjelaskan tentang *Cheese Model* yaitu kesalahan dalam pelayanan kepada pasien dapat berasal dari semua lini kesehatan, dimulai kesalahan pada penulis resep dapat diteruskan ke farmasis yang menerima resep dan kesalahan menyiapkan obat, dan diteruskan ke perawat ketika mengadministrasikan

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

obat kepada pasien. *Barrier* yang dapat mencegah timbulnya kesalahan yaitu pengetahuan terhadap penyakit, diagnosis dan lab, terapi obat, kemampuan komunikasi, kemampuan merencanakan rencana terapi dan monitoring. Philips *et al* (2001) menyebutkan sebanyak 16% ME ditimbulkan oleh kurangnya komunikasi yang baik antar tenaga kesehatan.

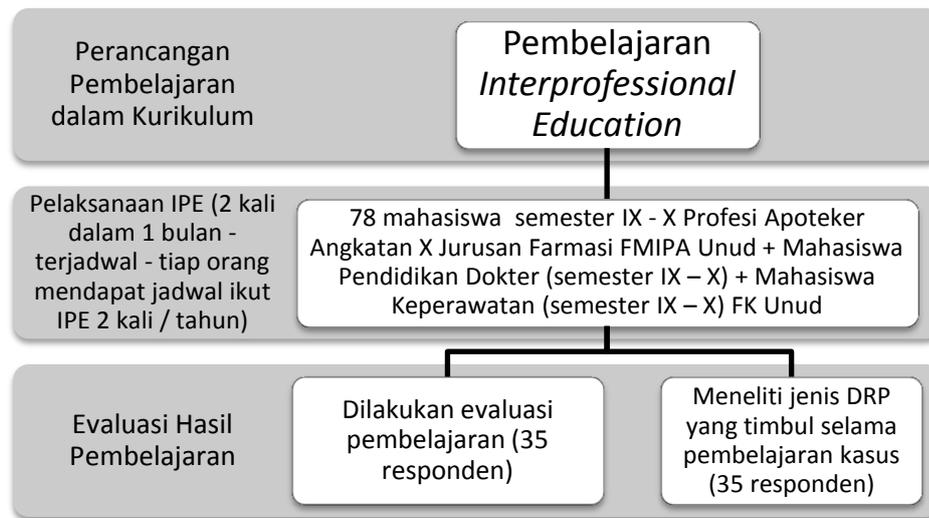
Pembelajaran *Interprofessional Education* (IPE) merupakan pembelajaran interprofesi kesehatan yang melibatkan lebih dari 1 (satu) profesi kesehatan selama masa studi. IPE berperan sebagai *role model* interprofesi dalam menyelesaikan kasus kesehatan sesuai dengan kompetensi masing-masing untuk meningkatkan keselamatan pasien dan mencegah *Medication Error*.

II. METODE PENELITIAN

Pembelajaran IPE diberlakukan perdana di Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Udayana (Unud) tahun 2014. Mahasiswa yang dilibatkan adalah Program Profesi Apoteker sebanyak 78 orang. Pembelajaran IPE diadakan 2 (dua) kali dalam sebulan. Setiap mahasiswa mendapat kesempatan 2 (dua) kali dalam 1 (satu) tahun di Bagian/SMF yang berbeda untuk mengikuti IPE dalam tim bersama mahasiswa Pendidikan Dokter dan mahasiswa Keperawatan Fakultas Kedokteran Unud. Semua mahasiswa beda jurusan berasal dari semester yang sama, yaitu semester IX dan X. Departemen yang dimasuki mahasiswa Farmasi yaitu Bagian Bedah, Anestesi, Anak, Penyakit Dalam, Saraf, Mata, THT, Obsgyn RSUP Sanglah Denpasar. Dalam IPE, mahasiswa diacak dalam 1 (satu) tim yang terdiri dari calon Apoteker, Dokter dan Ners. Setiap tim mendapatkan 1 (satu) kasus dan harus diselesaikan berdasarkan kompetensi masing-masing, dan dipaparkan dalam pleno.

Dilakukan evaluasi pembelajaran IPE terhadap 78 orang mahasiswa Farmasi yang telah mengikuti IPE sebanyak 2 (dua) kali. Sebanyak 35 orang bersedia ikut serta dalam penelitian. Instrumen pengambilan data yang digunakan adalah kuisisioner dengan pertanyaan terbuka. Aspek yang dinilai dalam kuisisioner adalah peran IPE terhadap peningkatan kompetensi apoteker, hambatan Apoteker dalam pelaksanaan IPE secara tim dengan profesi lain dan jenis DRP yang muncul selama pembelajaran. Sebanyak 35 orang diikutkan sebagai responden dan diberikan kuisisioner dengan teknik *consecutive random sampling*. Hasil penelitian dipaparkan secara deskriptif kuantitatif.

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*



Gambar 2. Skema dan ruang lingkup pembelajaran dan evaluasi IPE Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Udayana 2015

III. HASIL DAN DISKUSI

Dari 35 orang responden yang bersedia diikutsertakan dalam penelitian, 100% menyatakan setuju dengan diberlakukannya IPE pada mahasiswa Apoteker. Sebanyak 100% menyatakan IPE dapat berperan mengurangi terjadinya *Medication Error* terutama di Rumah Sakit. Selama pembelajaran IPE sebanyak 2 kali, terdapat 46 kasus *Drug Related Problem* (DRP) yang timbul. DRP yang muncul adalah interaksi obat potensial 40%; *potential Adverse Drug Reaction* (ADR) 22,8%; lama penggunaan obat 11,4%; salah terapi obat 8,5%; ketidaksesuaian bentuk sediaan 8,5%; ketidaksesuaian dosis dengan pustaka 5,7%; ada indikasi tanpa obat 2,9%; reaksi alergi 2,9%; kepatuhan 2,9%; dan ada obat tanpa indikasi 2,9%. Sebanyak 14,3% menyatakan tidak terdapat DRP. Jenis DRP disesuaikan dengan kriteria *Pharmaceutical Care Network Europe* (PCNE) tahun 2006.

Tabel 2 Identifikasi *Drug Related Problem* (DRP) selama pelaksanaan IPE disesuaikan dengan kriteria *Pharmaceutical Care Network Europe* (PCNE) 2006 (Cipolle, 2007)

No	Jenis <i>Drug Related Problem</i> berdasarkan PCNE, 2006	Uraian <i>Drug Related Problem</i> berdasarkan PCNE, 2006	<i>Drug Related Problem</i> yang terjadi selama IPE	Jumlah (n = 46 kasus)
1.	Reaksi obat yang tidak dikehendakan	- Efek samping non alergi - Efek samping alergi - Efek toksik	- Efek samping obat non alergi	22,8%
			- Reaksi alergi	2,9%
2.	Pemilihan obat	- Obat tidak sesuai indikasi - Bentuk sediaan tidak sesuai indikasi - Duplikasi tidak sesuai - Kontra indikasi - Indikasi penggunaan obat tidak jelas - Obat tidak diresepkan tapi indikasi jelas	- Ada obat tanpa indikasi	2,9%
			- Ada indikasi tanpa obat	2,9%
			- Ketidaksesuaian bentuk sediaan	8,5%
			- Salah terapi obat	8,5%
3.	Dosis	- Dosis terlalu rendah - Dosis terlalu tinggi - Dosis terlalu singkat - Dosis terlalu lama	- Lama penggunaan obat	11,4%
			- Ketidaksesuaian dosis obat dengan pustaka	5,7%
4.	Penggunaan obat	- Obat tidak diberikan semua - Salah minum atau pemberian	Tidak ada	-
5.	Interaksi obat	- Interaksi potensial - Interaksi manifestasi	- Interaksi obat potensial	40%
6.	Problema lain	- Pasien tidak puas meskipun terapi benar - Pasien kurang perhatian/ kesadaran terhadap kesehatan/ penyakit - Keluhan tidak jelas - Terapi gagal (alasan tidak diketahui)	- Ketidakpatuhan	2,9%

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan pembelajaran IPE dapat diterima dan sebanyak 2 kasus berhasil diselesaikan oleh mahasiswa Apoteker Jurusan Farmasi FMIPA Unud bersama mahasiswa Pendidikan Dokter dan mahasiswa Keperawatan FK

Unud. Pembelajaran IPE dapat mengurangi terjadinya *Medication Error (ME)*. Terdapat *Drug Related Problem (DRP)* yang timbul selama pembelajaran IPE dan menjadi tanggung jawab Apoteker untuk dapat menyelesaikan dan mengkomunikasikan DRP tersebut dalam tim kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Balas MC, Scott LD, Rogers AE. The Prevalence and Nature of Errors Reported by Hospital Staff Nurses. *Appl Nurs Res* 2004;17:224-230.
- Buckley MS, Erstad BL, Kopp BJ, *et al.* Direct Observation Approach for Detecting Medication Errors and Adverse Drug Events in A Pediatric Intensive Care Unit. *Pediatr Crit Care Med* 2007;8(2):145-52.
- Cipolle, R.J., Strand L.M., Morley P.C, 2007. *Pharmaceutical Care Practice: The Clinician's Guide*, 2th edition, New York: McGraw Hill's Companies
- Colen HB, Neef C, Schuring RW. Identification and Verification of Critical Performance Dimensions: Phase I of The Systematic Process Redesign of Drug Distribution. *Pharm World Sci* 2003;25(3):118-25.
- David Bates, Nathan Spell, David Cullen, *et al.*, The Cost of Adverse Events in Hospitalized Patients, *Journal of the American Medical Association* 277, no. 4, (1997): 307-311.
- Flynn EA, Barker KN, Pepper GA, *et al.* Comparison of Methods for Detecting Medication Errors in 36 Hospitals and Skilled-Nursing Facilities. *Am J Health Syst Pharm.* 2002 Mar 1;59(5):436-46.
- Philips J *et al.* Retrospective Analysis of Mortalities Associated with Medication Errors. *Am J Health Syst Pharm.* 2001 Oct 1;58(19):1835-41
- Tang FI, Sheu SJ, Yu S, *et al.* Nurses Relate The Contributing Factors Involved in Medication Errors. *J Clin Nurs.* 2007 Mar;16(3):447-57.
- Tissot E, Cornette C, Limat S, *et al.* Observational Study of Potential Risk Factors of Medication Administration Errors. *Pharm World Sci* 2003;25(6):264-8.
- World Health Organization. *The Conceptual Framework for The International Classification for Patient Safety*. Geneva, World Health Organization, World Alliance for Patient Safety, 2007

PENGARUH PENAMBAHAN *ALPHA HYDROXY ACID* TERHADAP LAJU PENETRASI IN VITRO KAFEIN SEBAGAI GEL ANTISELULIT

Lidya Ameliana
Bagian Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember
Email: lityaameliana@yahoo.co.id

Abstrak

Selulit adalah kondisi lokal pada jaringan lemak dan jaringan ikat subkutan berupa parutan-parutan tidak rata pada kulit yang nampak seperti kulit jeruk yang banyak terjadi pada wanita di bagian-bagian tubuh tertentu misalnya paha, pantat, lengan bagian atas, lutut, leher bagian belakang, dan betis. Bahan aktif yang sering digunakan untuk antiselulit yang efektif adalah kafein.

Pada penelitian ini dibuat sediaan gel kafein dengan basis HPMC ditambah dengan *Alpha Hydroxy Acid* (AHA) yaitu asam sitrat untuk memperbaiki penetrasi kafein ke dalam kulit. Dirancang 4 formula dengan variasi konsentrasi asam sitrat 0; 0,25; 0,5; dan 0,75% untuk mengetahui pengaruh asam sitrat terhadap kecepatan pelepasan dan penetrasi kafein menembus kulit tikus.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh AHA terhadap sifat fisiko-kimia gel kafein serta pengaruhnya terhadap kecepatan (fluks) pelepasan dan penetrasi kafein. Evaluasi sediaan meliputi pengujian organoleptis, pH, viskositas, daya sebar, uji sifat alir, dan pengujian homogenitas bahan aktif dalam sediaan. Uji penetrasi menggunakan alat disolusi tipe paddle dengan sel difusi. Selanjutnya kafein yang tertransport dianalisis dengan spektrofotometer UV-VIS untuk melihat kadar kafein yang terlepas dari basis dan terpenetrasi menembus kulit tikus.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa gel kafein yang dihasilkan jernih, dan tidak berwarna, serta tidak berbau. Semua gel memiliki pH, daya sebar, viskositas dan penetapan kadar kafein dalam gel memenuhi persyaratan. Dari pengujian dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi kadar AHA yang ditambahkan maka semakin rendah nilai pH dan viskositas, tetapi dapat meningkatkan fluks pelepasan maupun fluks penetrasi kafein melalui kulit tikus. Fluks pelepasan dan penetrasi kafein tertinggi didapatkan pada gel dengan kandungan kafein 0,75%. Pada penyimpanan selama 1 bulan tidak terdapat perubahan secara organoleptis maupun pH gel kafein

Kata Kunci: kafein, gel, AHA, fluks, selulit

I. PENDAHULUAN

Selulit adalah kondisi lokal pada jaringan lemak dan jaringan ikat subkutan berupa parutan-parutan tidak rata pada kulit yang nampak seperti kulit jeruk. Selulit biasanya muncul pada bagian-bagian tubuh misalnya paha, pantat, lengan bagian atas, lutut, leher bagian belakang, dan betis (Barel *et al.*, 2009).

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Bahan aktif yang dapat digunakan untuk mengatasi selulit, antara lain: golongan xantin (kafein, aminofilin, teofilin, atau ekstrak tumbuhan yang banyak mengandung xantin), retinoid, dan ekstrak tumbuhan misalnya *Centela asiatica*, *Ginkgo biloba*, *Aloe vera*, dll. Golongan xantin paling banyak digunakan karena bekerja secara langsung pada proses penghancuran jaringan lemak (*adipocyt lipolysis*) (Barel *et al.*, 2009). Golongan xantin yang paling banyak digunakan dan paling aman untuk antiselulit adalah kafein dengan konsentrasi 2 % . Cara kerja kafein adalah dengan memperlambat proses lipogenesis (pembentukan sel lemak) dan mempercepat proses lipolisis (penghancuran sel lemak) (Hexsel *et al.*, 2006).

Salah satu bentuk sediaan topikal yang dapat diberikan adalah gel. Gel adalah suatu sediaan semipadat yang jernih dan transparan yang mengandung zat aktif dalam keadaan terlarut (Lachman *et al.*, 1994). Keuntungan bentuk sediaan gel antara lain: memiliki daya sebar yang baik pada kulit, dapat memberikan efek dingin pada kulit, tidak menghambat fungsi fisiologis kulit, mudah dicuci dengan air, transparan, bersifat lembut, dan pelepasan obatnya baik (Voight, 1995).

Pemberian sediaan topikal kosmetik pada kulit pada umumnya menjadi lebih efektif jika dikombinasi dengan Alpha Hydroxy Acid (AHA). AHA merupakan senyawa yang dapat meremajakan kulit yang sudah tua dengan cara mengiritasi sehingga mempercepat proses keratinisasi. Pada lapisan epidermis kulit, AHA dinyatakan dapat meningkatkan proliferasi sel stratum korneum dalam pergantian sel, mengurangi kohesi antarkorneosit dengan mempengaruhi ikatan ionik diantaranya (Djajadisastra *et al.*, 2014). Contoh AHA diantaranya adalah: asam sitrat, asam glikolat, asam malat, asam laktat, dll.

Pada sediaan topikal, bahan aktif akan mengalami pelepasan dari basisnya, lalu dilanjutkan penetrasi bahan aktif melalui kulit dan kemudian baru memberi efek pada sisi aktif yang ada di dalam kulit. Pada penelitian ini dibuat sediaan gel dengan penambahan AHA berupa asam sitrat dengan konsentrasi 0; 0,25; 0,5; dan 0,75% yang selanjutnya dilakukan evaluasi yaitu pengamatan organoleptis sediaan, pH dan viskositas, serta uji pelepasan dan penetrasi kafein secara *in vitro* dari basis gel. Selain itu juga dilakukan penyimpanan sediaan gel kafein selama satu bulan untuk diamati apakah terjadi perubahan secara fisik atautkah tidak.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Genesis), alat uji disolusi (Pharmeq), viskotester (Viscometer Rion VT 04), pH meter (Denver), Mixer (IKA), timbangan (Adventure Ohaus), penguji daya sebar (Ekstensometer), sel difusi (Extraction Cell), mortir dan stamper, alat-alat gelas dan program SPSS 12 sebagai program pengolahan data.

Bahan yang digunakan adalah Caffein (PT. Brataco), Hidroksipropil Metilselulosa (PT Brataco), Propilen glikol (PT. Brataco) Asam Sitrat (PT. Brataco), Kalium klorida (PT. Brataco), Kalium Fosfat Dibasik (PT. Brataco), Natrium Fosfat Dibasik (PT. Brataco), Natrium Klorida (PT. Brataco), Natrium Benzoat (PT Barataco), Trietanolamin (PT Brataco), Membran selofan, Aquadestilata, tikus (Whistar Rat)

B. Pembuatan Gel Kafein

Kadar kafein sebagai antiselulit dalam penelitian ini adalah sebesar 2%, sedangkan basis yang digunakan dalam formula gel kafein ini adalah HPMC yang digunakan dalam masing-masing formula pada konsentrasi 2%. Susunan formula gel kafein dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Formula Gel Kafein

Komposisi gel (gram)	Formula (%)			
	F1	F2	F3	F4
Kafein	2	2	2	2
HPMC	2	2	2	2
Asam sitrat	0	0,25	0,50	0,75
Propilen glikol	10	10	10	10
Aquades sampai	100	100	100	100

C. Evaluasi Sediaan Gel Kafein

- Pengujian organoleptis. Merupakan pengujian langsung pada sediaan yang meliputi bentuk, warna, dan bau gel yang dihasilkan. Pengujian organoleptis ini dilakukan secara visual.

- b. Pengujian pH. Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter. Ditimbang 1,0 gram sampel gel kemudian ditambah dengan aquades bebas CO₂ hingga 10 mL, pH meter kemudian dicelupkan ke dalam gelas beker tersebut.
- c. Pengujian viskositas. Pada pengujian viskositas digunakan alat *Viscotester VT-04*. Spindel yang dipilih kemudian dicelupkan ke dalam gel yang telah dibuat. Hasil viskositas gel dapat dilihat dari angka yang ditunjukkan oleh alat.
- d. Pengujian daya sebar. Gel sebanyak 1 g diletakkan pada pusat antara dua lempeng gelas kaca bulat, lempeng sebelah atas dibebani dengan peletakan beban seberat 5 g dengan bobot tertentu selama 1 menit. Amati diameter sebaran sampel. Tambahkan beban 5 g setelah 1 menit. Hal ini dilakukan terus menerus hingga diperoleh diameter sebar gel yang konstan untuk melihat pengaruh beban terhadap perubahan diameter sebar gel. Diameter permukaan penyebaran yang dihasilkan dengan naiknya pembebanan, menggambarkan karakteristik daya sebar. Data yang diperoleh kemudian digambarkan secara grafik.
- e. Pengujian sifat alir gel. Sejumlah tertentu gel dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Alat pengaduk dikaitkan pada statif, kemudian batang pengaduknya dicelupkan ke dalam sampel. Alat pengaduk dinyalakan pada kecepatan 1200 rpm. Sediaan diaduk selama 0, 5, 10, 15 dan 20 menit, diukur viskositasnya pada masing-masing waktu. Perhitungan lamanya pengadukan sejak awal percobaan dilakukan secara kumulatif.
- f. Pengujian homogenitas bahan aktif dalam sediaan

- 1). Pembuatan larutan dapar fosfat salin (*Saline phosphate buffer/PBS*) pH 7,4

Larutan dapar fosfat salin pH 7,4 dibuat dengan melarutkan masing-masing KH₂PO₄ 0,27 gram, Na₂HPO₄ 1,44 gram, KCl 0,2 gram, dan NaCl 8,0 gram dengan kurang lebih 1000 mL aquades kemudian pada larutan tersebut dilakukan pengujian pH. Jika pH belum mencapai 7,4 maka dilakukan penyesuaian pH menggunakan larutan NaOH atau HCl. Hasil yang diperoleh kemudian ditambah dengan aquades hingga 1000 mL.

- 2). Penentuan panjang gelombang maksimum kafein

Kafein ditimbang seksama sebanyak $\pm 100,0$ mg kemudian dilarutkan dengan PBS pH 7,4 dalam labu ukur 100 mL. Larutan yang diperoleh memiliki konsentrasi sebesar 1000 ppm. Larutan induk ini kemudian diencerkan dengan PBS pH 7,4 hingga

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

menghasilkan kadar 10 ppm. Pengukuran panjang serapan larutan 10 ppm dilakukan dari panjang gelombang 200-400 nm

3) Uji Pengaruh Basis Terhadap Serapan Kafein dalam Gel

Gel yang mengandung kafein dan tanpa kafein masing-masing sebanyak 125 mg dimasukkan dalam labu ukur 25 mL kemudian ditambah larutan PBS pH $7,4 \pm 0,05$ sampai tanda batas. Labu ukur tersebut kemudian dihomogenkan dengan *ultrasonic* selama 30 menit agar bahan aktif terlarut sempurna. Secara teoritis larutan ini mengandung kafein dengan kadar 10 ppm. Kedua larutan tersebut disaring dengan kertas milipore dan diamati serapannya dengan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang 200- 400 nm.

4) Pembuatan kurva baku kafein dalam larutan PBS pH 7,4.

Larutan baku kafein 100 ppm diencerkan dengan larutan PBS pH 7,4 hingga diperoleh konsentrasi 5 ppm; 8 ppm; 10 ppm; 12 ppm; 15 ppm dan 20 ppm. Masing-masing larutan ini serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dibuat kurva kalibrasinya

5) Uji Homogenitas

Gel ditimbang sebanyak 125 mg dimasukkan dalam labu ukur 25 mL kemudian ditambah larutan PBS pH $7,4 \pm 0,05$ sampai tanda batas. Labu ukur tersebut kemudian dihomogenkan dengan *ultrasonic* selama 30 menit agar bahan aktif terlarut sempurna. Kemudian dipipet 1,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambah larutan PBS pH $7,4 \pm 0,05$ sampai tanda batas. Secara teoritis larutan ini mengandung kafein dengan kadar 10 ppm. Filtrat yang diperoleh diamati serapannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang terpilih. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Hitung nilai CV. Persyaratan yang diinginkan yakni nilai CV harus kurang sama dengan 6% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

g. Uji Pelepasan dan Penetrasi secara *in vitro*

1. Preparasi membran *cellophane*

Membran *cellophane* dipotong sesuai ukuran yang digunakan ± 3 cm. Membran *cellophane* direndam selama semalam dalam *beaker glass* yang berisi aquadestilata. Membran *cellophane* siap digunakan untuk uji pelepasan.

2. Penyiapan alat uji pelepasan

Alat uji disolusi diisi dengan larutan PBS pH $7,4 \pm 0,05$ sebanyak 500 mL kemudian diatur suhunya pada $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

3. Uji Pelepasan

Cakram diisi dengan gel kafein, kemudian dilapisi dengan membran *cellophane* dan ditutup, lalu dimasukkan ke dalam alat uji disolusi. Pedal dipasang hingga jarak ujung pedal dengan bagian atas cakram yakni 25 ± 2 mm. Kecepatan putar pedal diatur 50 rpm. Tombol *start* ditekan untuk memulai kerja alat. Proses dilakukan selama 8 jam. Sampel diambil dari kompartemen reseptor sebanyak 5,0 mL pada menit ke- 0, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480. Setiap kali selesai sampling, dilakukan penambahan 5,0 mL larutan dapar fosfat salin pH $7,4 \pm 0,05$ yang baru. Sampel yang telah diperoleh kemudian dianalisis kadar kafein yang terkandung di dalamnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum untuk memperoleh konsentrasi kafein tertransportasi tiap waktu

Hasil kafein yang tertransportasi terhadap waktu dibuat untuk mengetahui pelepasan bahan aktif pada tiap formula. Kurva profil pelepasan yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan waktu yang diperlukan hingga dicapai kondisi tunak (*steady state condition*) dimana konsentrasi kafein yang tertransportasi selalu tetap terhadap waktu (Sinko, 2011). Laju pelepasan kafein dapat diketahui dengan cara membuat kurva hubungan antara Q (jumlah obat yang lepas persatuan luas) dan \sqrt{t} (waktu)^{1/2}. *Slope* yang diperoleh merupakan *flux* pelepasan yang menunjukkan banyaknya obat lepas tiap satuan luas pada waktu tertentu, seperti pada persamaan Higuchi berikut ini:

$$Q = \frac{q}{x} = [Dt(2A - C_s)C_s]^{1/2}$$

Q adalah jumlah obat (q) yang terlepas pada waktu t persatuan luas (x), D adalah koefisien difusi obat dalam pembawa, A adalah kadar permulaan obat dalam pembawa, C_s adalah kelarutan obat dalam pembawa, dan t adalah waktu (Sinko, 2011).

4. Uji Penetrasi Kafein secara In Vitro

Uji penetrasi dilakukan dengan cara yang sama dengan uji pelepasan. Perbedaannya adalah membran selofan diganti dengan kulit tikus. Kulit tikus disiapkan dengan cara tikus Whistar jantan usia 3 bulan dibius hingga mati dan diambil kulit abdomennya serta dibersihkan dari lemak-lemak yang menempel. Selanjutnya dipotong seukuran sel difusi. Proses selanjutnya sama dengan uji pelepasan. Pada proses perhitungan nilai fluks, maka kadar kumulatif kafein yang terpenetrasi diplot dengan waktu, *slope* yang didapat merupakan nilai fluks penetrasi.

h. Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel dalam Penyimpanan Selama 1 Bulan

Sediaan gel kafein yang sudah dibuat disimpan dalam wadah tertutup di dalam desikator selama 1 bulan, kemudian dilihat sifat fisiknya (organoleptis) selama penyimpanan tersebut apakah terjadi perubahan sifat fisik atau tidak.

D. Analisis Data

Pengujian statistika digunakan untuk menguji apakah ada perbedaan yang bermakna pada hasil penelitian yang dilakukan, yakni perbedaan hasil pH, viskositas, daya sebar, dan penetrasi kafein pada gel basis HPMC dengan variasi konsentrasi asam sitrat 0%; 0,25%; 4% dan 6% pada gel formula I, II, III dan IV. Pengujian statistika yang dipilih adalah uji ANOVA satu arah. Variabel bebas yang dipilih adalah formula yakni FI, FII, FIII dan FIV, sedangkan variabel terikatnya adalah nilai pH, viskositas, dan kecepatan kafein yang terlepas tiap satuan waktu dan kecepatan penetrasi kafein ke dalam kulit tikus.

Jika diperoleh hasil yang berbeda signifikan dari pengujian yang telah dilakukan maka dilanjutkan dengan uji LSD dengan menggunakan program SPSS. Hasil uji ANOVA satu arah dan LSD dikatakan signifikan atau bermakna bila didapatkan harga $p < 0,05$ ($\alpha = 0,05$) dengan tingkat kepercayaan 95% (Sudjana, 1996).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

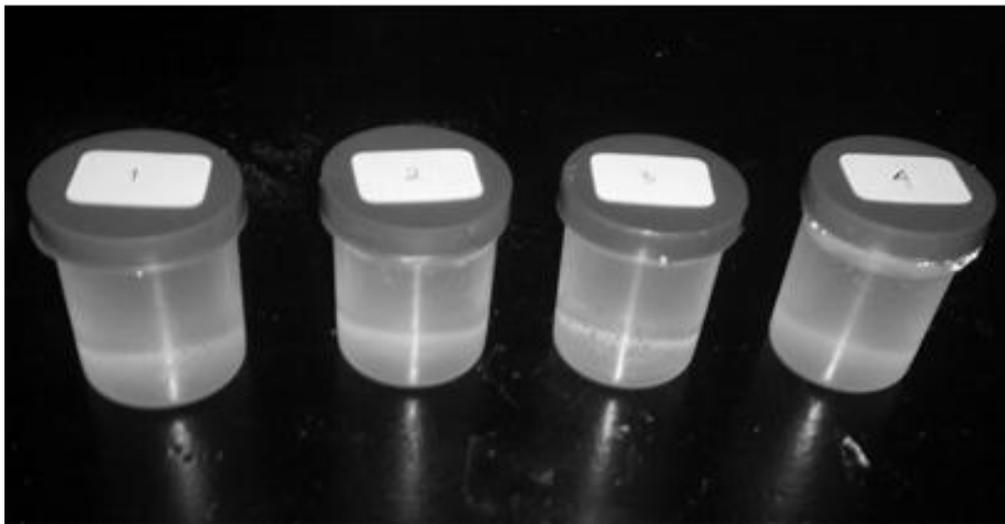
A. Hasil Evaluasi Sediaan Gel Kafein

a. Pengujian Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan secara visual tanpa bantuan alat khusus meliputi bentuk, warna, dan bau. Gambar hasil pembuatan gel dari F1, F2, F3, dan F4

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

dapat dilihat pada Gambar 1 dan hasil pengamatan organoleptis gel kafein dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 1. Sediaan gel kafein yang dihasilkan (F1, F2, F3, dan F4)

Tabel 2. Hasil pengujian organoleptis gel kafein

Formula	Bentuk	Warna	Bau
1	Gel	Jernih	Tidak berbau
2	Gel	Jernih	Tidak berbau
3	Gel	Jernih	Tidak berbau
4	Gel	Jernih	Tidak berbau

b. Hasil Pengujian pH Sediaan

Pengujian pH sediaan dilakukan pada masing-masing replikasi dari formula. Hasil pengujian pH dari keempat formula gel dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengujian pH, Viskositas, dan Daya Sebar Gel Kafein

Formula	pH	Viskositas (dPas)	Daya Sebar (cm)
1	6,43 ± 0,11	70 ± 0	6,20 ± 0,20
2	4,51 ± 0,01	60 ± 0	6,53 ± 0,15
3	3,81 ± 0,01	50 ± 0	7,03 ± 0,15
4	3,47 ± 0,02	40 ± 0	7,93 ± 0,06

Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan bahwa nilai $p < 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar formula. Selanjutnya dilakukan uji LSD dan dapat disimpulkan bahwa pH sediaan $F1 > F2 > F3 > F4$. pH sediaan terendah terdapat pada formula 4 yang mengandung asam sitrat paling banyak. Makin banyak asam sitrat yang ditambahkan, pH sediaan makin asam. Berdasarkan peraturan BPOM syarat pH produk akhir sediaan yang mengandung AHA sampai 10% yaitu minimal 3,5. Pada pH 3,5 efikasinya paling baik dengan toleransi optimum dari kulit (Yazen, 1997). Berdasarkan hal tersebut untuk mencegah terjadinya iritasi pada kulit, pH akhir sediaan dibuat dalam rentang 3,5-6,5 yang merupakan pH aman untuk kulit. pH sediaan pada F4 kurang dari 3,5 sehingga kurang memenuhi persyaratan terhadap keamanan kulit.

c. Hasil Pengujian Viskositas Sediaan

Hasil pengujian viskositas sediaan gel dapat dilihat pada Tabel 3. Viskositas sediaan semisolid yang cocok untuk pemencetan dari tube, dan selanjutnya untuk memudahkan pemakaiannya adalah sekitar 50 sampai 1000 dPa.s (Langenbacher dan Lange, 2007). Hasil uji viskositas keempat sediaan gel menunjukkan bahwa viskositas sediaan gel F1, F2, dan F3 memenuhi persyaratan, sedangkan F4 kurang dari persyaratan. Namun secara fisik, viskositas gel F4 masih bagus dan mudah diaplikasikan di kulit, sehingga masih memenuhi persyaratan.

Berdasarkan hasil uji statistic Anova didapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antarformula, dan pada uji post hoc LSD dapat disimpulkan bahwa semua formula berbeda bermakna viskositasnya. Dengan demikian dapat disimpulkan $F1 > F2 > F3 > F4$.

d. Hasil Pengujian Daya Sebar Sediaan

Pengujian daya sebar dilakukan untuk mengetahui daya sebar gel dan juga untuk mengetahui pengaruh jumlah asam sitrat terhadap daya sebar sediaan gel. Pengujian daya sebar sangat penting dilakukan karena untuk memastikan sifat gel yang dihasilkan biasanya bersifat pseudoplastis, yakni dengan sedikit tekanan gel akan mudah disebarkan. Hal ini berhubungan dengan *acceptability* atau keterterimaan pengguna terhadap sediaan.

Daya sebar gel diperlihatkan oleh diameter sebar gel terhadap beban yang ditambah secara berkala. Hasil pengujian menunjukkan bahwa $F4 > F3 > F2 > F1$ dan sesuai dengan hasil uji viskositasnya, yaitu semakin besar viskositas sediaan maka

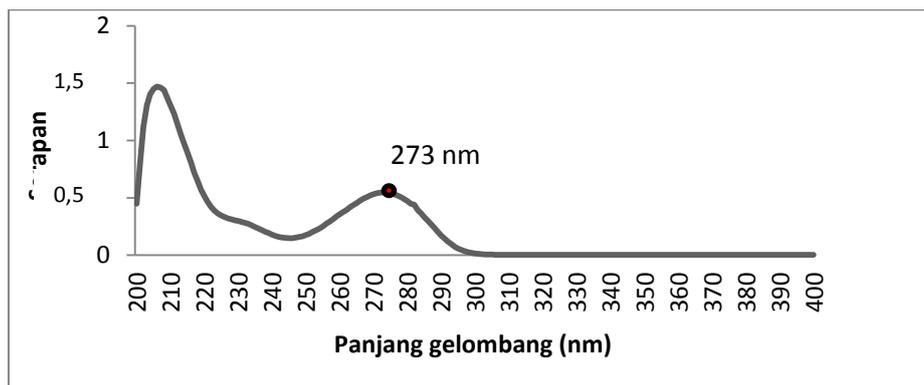
*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

semakin kecil daya sebarannya. Hasil pengujian daya sebar sediaan gel dapat dilihat pada Tabel 3.

e. Hasil Pengujian Homogenitas Bahan Aktif dalam Sediaan

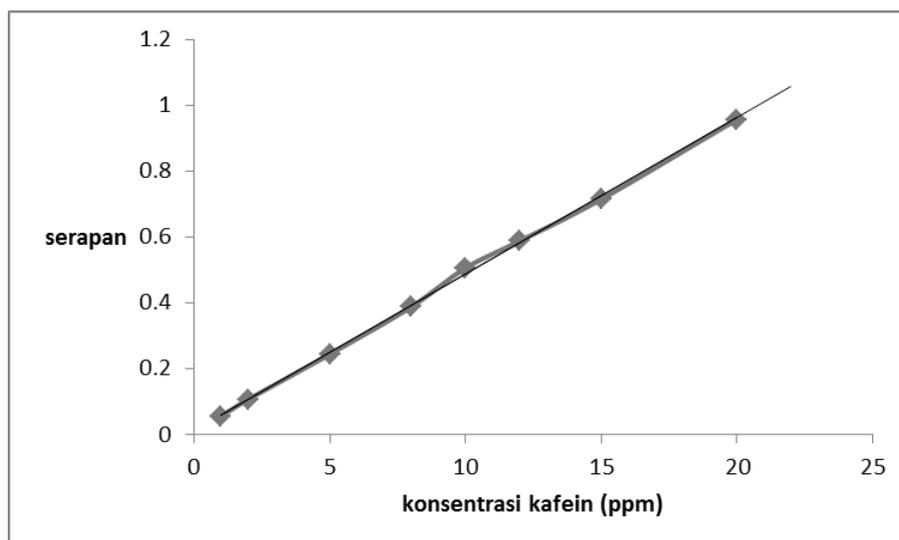
1. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum

Berdasarkan hasil penentuan panjang gelombang maksimum kafein yang diperlihatkan pada Gambar 2, diketahui bahwa kafein memiliki panjang gelombang maksimum pada 273 nm.



Gambar 2. Kurva serapan kafein dengan kadar 10,00 ppm dalam PBS pH 7,4 ± 0,05

Berdasarkan hasil pengukuran serapan larutan standar tersebut pada panjang gelombang 273 nm, maka diperoleh persamaan garis regresi linier dari kurva baku kafein dalam larutan dapar fosfat salin yaitu $y = 0,0474x + 0,0123$ dengan nilai $r = 0,973$. Hasil pengukuran serapan kafein dalam dapar fosfat salin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva baku kafein dalam PBS pH 7,4 ± 0,05

2. Hasil Penetapan Kadar Kafein dalam Gel

Pengujian homogenitas dilakukan untuk mengetahui sediaan gel telah homogen atau tidak. Hasil pengujian homogenitas keempat gel dari formula F1, F2, F3, dan F4 diperlihatkan pada Tabel 4. Menurut Farmakope Indonesia IV tahun 1995, suatu sediaan dikatakan memenuhi persyaratan homogen apabila nilai CV tidak melebihi 6%. Hasil penentuan homogenitas sediaan gel yang telah dilakukan menunjukkan bahwa formula F1, F2, F3 maupun F4 memenuhi persyaratan homogenitas yang telah ditetapkan.

Tabel 4. Hasil perhitungan kadar kafein dalam setiap formula

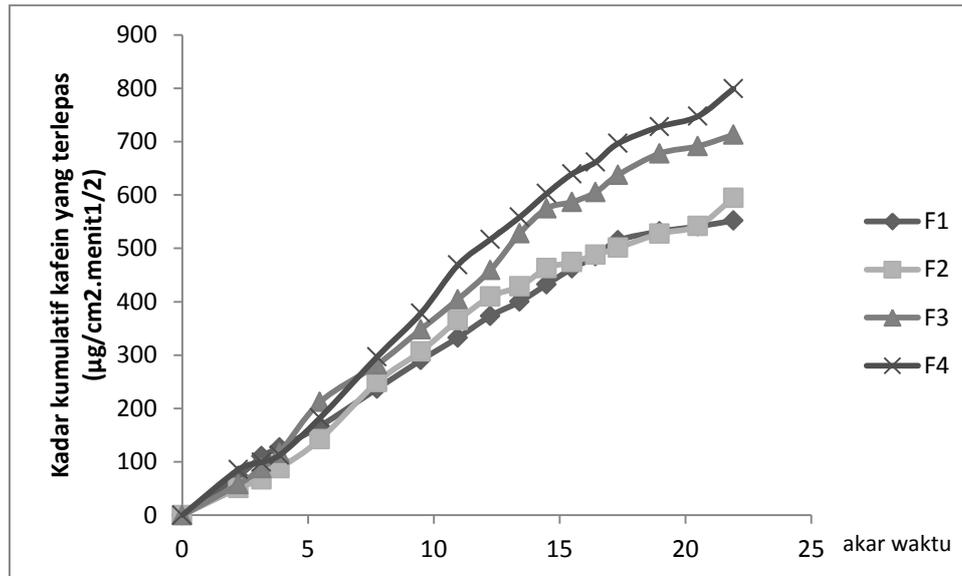
Replikasi	% Recovery			
	F1	F2	F3	F4
1	99,84	99,67	99,45	99,78
2	99,7	99,6	99,56	99,66
3	99,79	99,62	99,65	99,5
Kadar rata-rata ± SD	99,78 ± 0,071	99,63±0,036	99,55 ± 0,100	99,64± 0,141
CV (%)	0,071	0,036	0,100	0,141

f. Hasil Uji Pelepasan dan Penetrasi Kofein dari Basis Gel

1. Hasil Uji Pelepasan Kafein dari Basis Gel

Profil pelepasan kafein dari basis gel dapat dilihat pada Gambar 4. Nilai fluks merupakan slope dari hasil regresi antara massa tertransportasi tiap satuan luas terhadap waktu pada kondisi *steady state*. Kondisi *steady state* ditunjukkan dengan gambaran kurva yang linier. Kurva linier memiliki nilai koefisien korelasi (r) sama dengan atau mendekati 1, jadi untuk menghitung fluks digunakan kurva yang memiliki nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1 (Sinko, 2011). Hasil perhitungan fluks pelepasan kafein dari basis gel dapat dilihat pada Tabel 5.

Pelepasan kafein dari basis gel dipengaruhi oleh kelarutan obat, koefisien partisi obat dalam polimer, sifat fisika kimia polimer dan difusi. Kelarutan bahan aktif juga mempengaruhi lepasnya molekul obat dari basis. Semakin larut suatu obat dalam sediaan, maka semakin mudah obat tersebut untuk lepas dari basis dan berdifusi (Sinko, 2011).



Gambar 4. Profil pelepasan kafein dari basis gel

Tabel 5. Hasil perhitungan fluks pelepasan dan penetrasi kafein

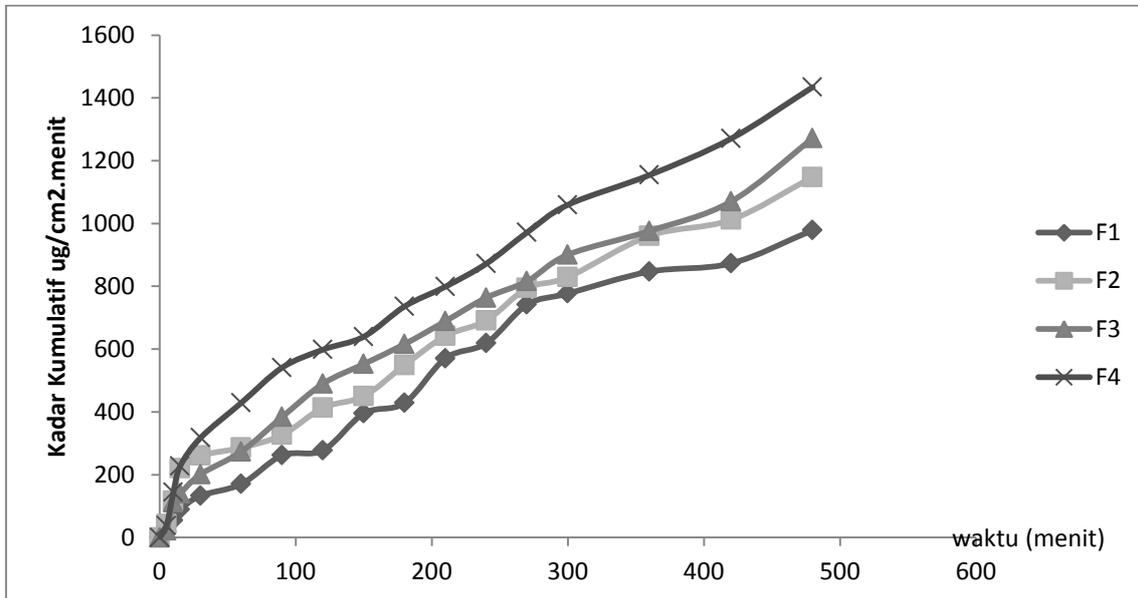
Formula	Fluks Pelepasan (µg/cm ² .menit ^{1/2})	Fluks Penetrasi (µg/cm ² .menit)
1	26,634 ± 2,132	2,127 ± 0,087
2	28,692 ± 0,332	2,265 ± 0,016
3	35,661 ± 3,968	2,502 ± 0,029
4	39,158 ± 1,938	2,780 ± 0,016

Hasil pengujian statistik Anova, fluks pelepasan didapatkan bahwa nilai $p = 0,03$ sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan bermakna antarformula. Selanjutnya dilakukan *post hoc test* dan didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara F1 dengan F2 dan F3 dengan F4. Berdasarkan hasil uji statistik tersebut dapat disimpulkan bahwa penambahan asam sitrat dapat meningkatkan nilai fluks pelepasan kafein dari basis gel HPMC. Hal ini sesuai dengan viskositas sediaan gel dimana semakin encer sediaan gel semakin mudah lepas kafeinnya dari sediaan gel.

2. Hasil Uji Penetrasi Kafein melalui Kulit Tikus

Hasil pengujian penetrasi kafein melalui kulit tikus dapat dilihat pada Gambar 5. Hasil fluks penetrasi pada penelitian ini merupakan *slope* hasil regresi antara massa tertransportasi persatuan luas (µg/cm²) terhadap waktu (menit). Fluks dapat dihitung bila

terbentuk kondisi *steady state*. Kondisi *steady state* ditunjukkan dengan gambaran kurva yang linier. Kurva yang linier memiliki nilai koefisien korelasi (r) sama dengan atau mendekati 1, jadi untuk menghitung fluks dan *lag time* digunakan kurva yang memiliki nilai koefisien (r) mendekati 1.



Gambar 5. Profil Kecepatan Penetrasi Kafein menembus Kulit Tikus

Hasil pengujian laju penetrasi berupa nilai fluks kafein pada gel formula F1, F2, F3, dan F4 diperlihatkan pada Tabel 5. Formula yang memiliki nilai fluks dari yang tertinggi hingga terendah berturut-turut adalah F4, F2, F3, dan F1.

Hasil pengujian statistik fluks penetrasi menunjukkan bahwa nilai $p=0$, sehingga terdapat perbedaan bermakna antar formula. Kemudian dilanjutkan dengan *post hoc* didapatkan bahwa semua formula memiliki perbedaan bermakna, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi asam sitrat yang ditambahkan ke dalam gel kafein maka semakin besar nilai fluks kecepatan penetrasinya.

g. Hasil Penyimpanan Sediaan Gel Kafein

Sediaan gel kafein yang sudah disimpan selama 1 bulan diamati sifat fisiknya seperti organoleptis, pH dan viskositas. Hasil penyimpanan sediaan gel kafein menunjukkan bahwa seluruh formula sediaan gel kafein tidak mengalami perubahan bentuk, warna, dan bau, tetapi sediaan menjadi lebih encer. pH sediaan gel kafein sebelum dan setelah disimpan selama satu bulan dapat dilihat pada Tabel 6.

Berdasarkan hasil pengamatan sediaan gel yang sudah disimpan selama 1 bulan dapat dilihat bahwa tidak terjadi perubahan pH sediaan selama penyimpanan 1 bulan.

Tabel 6. pH sediaan gel kafein

Formula	pH Gel Kafein Awal (rata-rata ± SD)	pH Gel Kafein setelah penyimpanan 1 Bulan (rata-rata ± SD)
F1	6,43 ± 0,11	6,43 ± 0,01
F2	4,51 ± 0,01	4,51 ± 0,01
F3	3,81 ± 0,01	3,81 ± 0,01
F4	3,47 ± 0,02	3,50 ± 0,04

IV. KESIMPULAN

1. Penambahan AHA berupa asam sitrat pada sediaan gel kafein tidak mempengaruhi organoleptis sediaan, tapi dapat meningkatkan daya sebar, menurunkan pH dan viskositas sediaan
2. Penambahan AHA berupa asam sitrat pada sediaan gel kafein dapat meningkatkan fluks pelepasan dan penetrasi kafein menembus kulit tikus
3. Penyimpanan sediaan gel kafein selama satu bulan tidak mempengaruhi warna, bau, dan pH sediaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Barrel, A. O., 2009, Anticellulite Product and Treatments, Dalam Barrel, A. O., Paye, M., Mailbach, H. I., Handbook of Cosmetic Science and Technology, 3rd Edition, New York: Informa Healthcare USA, Inc.
- Djajadisastra, J., Sutriyo, Hadyanti, 2014, Percutane Transport Profile of Caffeine and Aminophyllin as Anticellulite and The Influences of Other Substances on In Vitro Penetration, IJPPS, 6(5): 532-538
- Hexsel, Prado, Rao, Goldman, 2006, Topical Management of Cellulite, Dalam Goldman, Bacci, Leibaschoff, dan Angelini. Cellulite Pathophysiology and Treatment, New York: Taylor & Francis Group, LLC
- Lachman, L., Lieberman, H.A., & Kanig, J.L. ,1994,Teori dan Praktek Industri Farmasi Edisi II, Jakarta: UI Press
- Langenbucher dan Lange, 2007, "Reologi Farmasetik". Dalam Lachman, L., Lieberman, H. A., dan Kanig, J. L. Teori dan Praktek Farmasi Industri II, Edisi Ketiga, No 1, Jakarta: Universitas Indonesia Press

Sinko, P. J., 2011, Martin Farmasi Fisik dan Ilmu Farmasetika Edisi 5, Jakarta: EGC
Kedokteran

Sudjana, 1996, Metoda Statistika, Bandung: PT. Tarsito Bandung

Voigt, R., 1995, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Yogyakarta: Gadjah Mada
University Press

DAMPAK PERGANTIAN TERAPI ANTIBIOTIK INTRAVENA KE RUTE PER ORAL TERHADAP ANALISIS FARMAKOEKONOMI PASIEN PNEUMONIA SELAMA RAWAT INAP

Afifah Machlaurin

Bagian Farmasi Klinik dan komunitas, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Email: machlaushol@yahoo.com

Abstrak

Terapi pneumonia di rawat inap biasanya dimulai dengan memberikan antibiotik intravena empiris, namun rute pemberian antibiotik bisa dirubah selama perawatan dari intravena ke per oral selama perawatan jika pasien menunjukkan perbaikan klinik. Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan efektifitas dan biaya antara terapi antibiotik yang dilakukan penggantian rute dari intravena ke per oral dengan penggunaan antibiotik intravena tanpa penggantian ke rute per oral pada pasien pneumonia selama perawatan di rumah sakit. Penelitian ini juga mengevaluasi dampak pergantian terapi antibiotik intravena ke oral terhadap analisis Farmakoekonomi pasien pneumonia selama rawat inap. Penelitian ini dilakukan secara retrospektif terhadap data rekam medik dan catatan pembayaran pasien pneumonia rawat inap. Kriteria inklusi dari penelitian ini adalah pasien rawat inap dengan diagnosa pneumonia dengan usia >18 tahun. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah pasien pneumonia aspirasi, pasien dengan kondisi *immunocompromise* (contoh pasien HIV/AIDS dan pasien kanker stadium akhir), dan pasien dengan diagnosa infeksi lain. Dari data pasien dikategorikan menjadi dua kelompok yaitu; kelompok i.v (*intravenous group*), yaitu kelompok yang mendapat terapi antibiotik intravena selama di rawat inap tanpa pergantian terapi ke rute per oral; dan kelompok s.w (*switched group*), yaitu kelompok yang awalnya mendapat terapi antibiotik intravena kemudian diganti dengan rute per oral. Dari kedua kelompok dilakukan analisa perbandingan biaya, efektifitas, dan analisis farmakoekonomi dengan menggunakan uji Mann Whitney. Biaya meliputi biaya total dan biaya antibiotik. Efektivitas meliputi nilai LOS (*length of stay*) dan LOSAR (*length of stay antibiotic related*). Analisis farmakoekonomi dilakukan dengan membandingkan rasio biaya terhadap efektifitas. Penelitian ini menganalisa 171 pasien, 105 pasien termasuk kelompok i.v dan 66 pasien kelompok s.w. Analisis perbandingan biaya menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok s.w dan kelompok i.v terhadap total biaya (9.673.300 vs 8.609.400, p value 0,440) dan biaya antibiotik (3.336.500 vs 3.830.400, p value 0.195). Analisis perbandingan efektifitas juga menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok s.w dan kelompok i.v terhadap nilai LOS (12,74 vs 11,56 hari p value 0.602) dan LOSAR (10,81 vs 10,04 hari p value 0.413). Namun jika dilihat dari analisis farmakoekonomi kelompok s.w memiliki rasio efektifitas lebih baik jika dibandingkan kelompok i.v (263.100 vs 339.400 rupiah biaya antibiotik per hari LOSAR, p value 0.025). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggantian terapi antibiotik dari rute

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

intravena ke rute per oral, saat kondisi pasien sudah mulai membaik, memiliki nilai efektifitas biaya yang lebih baik dibandingkan penggunaan terapi antibiotik intravena secara terus menerus pada pasien pneumonia selama di rumah sakit.

Kata Kunci: analisis farmakoekonomi, pergantian rute terapi antibiotik, pneumonia.

I. PENDAHULUAN

Pneumonia adalah penyakit infeksi disertai inflamasi pada jaringan parenkim paru. Pneumonia menjadi penyakit yang serius karena tingkat morbiditas dan mortalitasnya yang tinggi (Mandell, *et. al.*, 2007). Indonesia menempati urutan 6 insiden pneumonia terbesar sedunia (Sutriyanto, 2011). Seiring dengan bertambahnya pasien pneumonia setiap tahunnya maka pengembangan strategi terapi yang dapat menghemat biaya sangat diperlukan (Kohno, *et. al.*, 2013).

Penggunaan antibiotik empiris di rumah sakit pada terapi pneumonia sangat bervariasi tergantung dari patogen yang menginfeksi, kondisi klinis pasien, dan pola kuman di lingkungan rumah sakit (Ambroggio *et. al.*, 2012). Pemilihan antibiotik yang tepat menjadi sangat penting karena terkait dengan keamanan pasien dan resistensi antibiotik (Mertz, *et. al.*, 2009). Salah satu cara untuk mengoptimalkan penggunaan antibiotik di rumah sakit adalah dengan mengganti antibiotik dari rute intravena ke rute per oral. Hal ini memiliki beberapa keuntungan yaitu; menguntungkan pasien, menurunkan biaya, menurunkan beban kerja perawat, menurunkan resiko infeksi karena penggunaan infus, memperpendek lama terapi di rumah sakit. Antibiotik intravena biasanya memiliki harga yang lebih mahal dibanding antibiotik per oral, selain itu proses administrasi antibiotik intravena juga membutuhkan biaya tambahan dari asuhan keperawatan (Sevinc, *et. al.*, 1999; Mertz, *et. al.*, 2009).

Pergantian terapi antibiotik dari intravena ke per oral direkomendasikan pada pasien pneumonia yang dirawat di rumah sakit yang mengalami perbaikan kondisi klinik (Kohno, *et. al.*, 2013). Sepengetahuan peneliti belum ada penelitian di Indonesia yang menganalisis perbandingan nilai farmakoekonomi dari strategi pergantian terapi antibiotik dari rute intravena ke rute peroral.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah sebuah studi komparasi yang membandingkan biaya, efektifitas, dan analisis farmakoekonomi antara kelompok terapi antibiotik i.v dan

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

kelompok terapi antibiotik dengan pergantian ke rute per oral. Data diambil secara retrospektif terhadap data rekam medik dan catatan pembayaran pasien pneumonia rawat inap.

A. Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan secara retrospektif. Data demografi, status klinik, diagnosis dan pengobatan pasien diambil dari rekam medik pasien pneumonia yang dirawat inap di rumah sakit selama periode Januari-Desember 2012. Data yang memenuhi kriteria inklusi dikelompokkan menjadi dua dan dilakukan *matching* berdasarkan usia, jenis kelamin, tipe pembayaran, dan penyakit komorbid. Data pembiayaan pasien diambil dari catatan pembiayaan yang diambil dari bagian keuangan rumah sakit. Total biaya adalah semua biaya yang dikeluarkan saat awal masuk sampai keluar rumah sakit, meliputi biaya akomodasi, biaya laboratorium, biaya tindakan medis dan keperawatan, biaya bahan obat dan alat kesehatan. Biaya antibiotik adalah biaya yang digunakan untuk pembelian antibiotik baik antibiotik intravena ataupun antibiotik per oral.

B. Kriteria Pasien

Kriteria inklusi dari penelitian ini adalah pasien rawat inap dengan diagnosa pneumonia dengan usia >18 tahun. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah pasien pneumonia aspirasi, pasien dengan kondisi *immunocompromise* (contoh pasien HIV/AIDS dan pasien kanker stadium akhir), dan pasien dengan diagnosa infeksi lain. Dari data pasien dikategorikan menjadi dua kelompok yaitu; kelompok i.v (*intravenous group*), yaitu kelompok yang mendapat terapi antibiotik intravena selama di rawat inap tanpa pergantian terapi ke rute per oral; dan kelompok s.w (*switched group*), yaitu kelompok yang awalnya mendapat terapi antibiotik intravena kemudian diganti dengan rute per oral ketika kondisi klinis sudah membaik. Peneliti tidak memberikan kriteria detail kondisi klinis yang membaik.

C. Parameter Efektivitas

Efektivitas meliputi nilai LOS (*length of stay*) dan LOSAR (*length of stay antibiotic related*). LOS adalah Analisis farmakoekonomi dilakukan dengan membandingkan rasio biaya terhadap efektivitas. LOS adalah jumlah total hari perawatan di rumah sakit, mulai dari pasien masuk sampai pasien keluar rumah sakit. LOSAR adalah jumlah hari selama pasien mendapatkan terapi antibiotik intravena selama dirawat inap.

D. Analisis Statistik

Data demografi ditampilkan dalam bentuk persentase dan data deskriptif. Nilai LOS, LOSAR, biaya dan analisis farmakoekonomi dibandingkan dengan menggunakan uji Mann Whitney karena data tidak terdistribusi normal. Uji normalitas penelitian ini menggunakan uji Kolmogorv Smirnov. Hasil statistik disimpulkan dengan melihat nilai *p-value* dengan tingkat kepercayaan 95%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Populasi Pasien

Dari seluruh data yang diambil terdapat 171 pasien yang memenuhi kriteria inklusi. Pasien didominasi dengan jenis kelamin laki-laki yaitu 162 pasien (94,74%). Usia rata-rata pasien adalah $56 \pm 13,77$ tahun, 56,14 pasien dengan pembiayaan jamkesmas, dan 73,68% pasien dirawat di kelas III. Penyakit penyerta yang mendominasi adalah penyakit kardiovaskuler sebanyak 56,74%. Dari 171 pasien, 105 pasien termasuk kategori kelompok i.v dan 66 pasien kelompok s.w. Data dari kedua kelompok dilakukan *matching* berdasarkan usia, jenis kelamin, tipe pembayaran, kelas perawatan dan penyakit penyerta. Kedua kelompok dinyatakan *matching* dilihat dari nilai *p-value* $> 0,05$ (Tabel 1). Uji yang digunakan untuk menyatakan kualitas *matching* adalah uji Chi Square dan uji *t-test independent*. Proses *matching* diperlukan untuk menghindari adanya bias yang disebabkan ketidakseragaman kondisi pasien atau pembiayaan pasien. Kelas pembayaran akan mempengaruhi biaya akomodasi dan pemilihan antibiotik bermerk, sedangkan penyakit penyerta dan komplikasi sepsis yang *match* antara kedua kelompok menunjukkan tingkat keparahan yang setara antar kedua kelompok. Penyakit penyerta yang paling banyak dari hasil penelitian adalah kardiovaskuler. Berdasarkan sebuah studi *chronic heart disease*, gangguan liver, dan kanker dapat meningkatkan resiko terjadinya pneumonia secara signifikan (Vila-Corcoles *et al.*, 2009).

Tabel 1. Karakteristik dan demografi pasien pneumonia rawat inap

Karakteristik	Total (n = 171)	Kelompok i.v (n = 105)	Kelompok s.w (n = 66)	*P value
Jenis Kelamin				0,739
Perempuan	9	6	3	
Laki-laki	162	99	63	
Usia (rata-rata tahun)		57,4	53,9	,133
Tipe Pembayaran				,981
Askes		24	15	
Jamkesda		15	8	
Jamkesmas		58	38	
Private		8	5	
Kelas Ruangan				,491
Kelas 1		14	5	
Kelas 2		15	11	
Kelas 3		76	50	
Penyakit penyerta				
<i>Cardiovascular</i>		59	38	,859
Diabetes mellitus		18	15	,368
Gangguan ginjal		13	12	,296
Gangguan hati		10	6	,925
Neoplasma		9	8	,450
Penyakit paru lain		25	11	,773
Komplikasi sepsis		7	3	,565

B. Profil Antibiotik

Antibiotik intravena yang paling banyak digunakan adalah ceftriaxone sebanyak 171 pemakaian. Penggunaan antibiotik ada yang tunggal dan ada yang kombinasi. Antibiotik per oral yang paling banyak digunakan adalah ciprofloxacin p.o sebanyak 27 pemakaian (Tabel 2 dan Tabel 3). Ciprofloxacin saat ini sudah tidak direkomendasikan karena aktivitasnya yang rendah dan resistensi yang sudah meluas terhadap *S. Pneumoniae*. Penggunaan ciprofloxacin yang gagal juga akan memicu

resistensi pada golongan fluoroquinolone lainnya (Thiem *et al.*, 2011; Frei *et al.*, 2011).

Tabel 2. Profil antibiotik intravena yang digunakan

Jenis Antibiotik i.v	Jumlah
Ceftriaxone	171
Ciprofloxacin	65
Meropenem	11
Gentamycin	7
Levofloxacin	6
Aztromycin	5
Metronidazole	3
Cefprozil	2
Cefotaxim-sulbactam	2
Cefazolin	2
Cefepim	1
Co-amoxiclav	1
Lyncomycin	1
Ceftazidime	1

Tabel 3. Profil antibiotik per oral yang digunakan

Jenis Antibiotik i.v	Jumlah
Ciprofloxacin	27
Cefadroxil	21
Levofloxacin	17
Cefixime	2
Clindamycin	2
Metronidazole	1

Jika dibandingkan dengan *ciprofloxacin*, antibiotik golongan *fluoroquinolone* pernafasan seperti *gatifloxacin*, *moxifloxacin*, dan *trovafloxacin* memiliki aktivitas in vitro yang lebih besar terhadap *S. aureus* and some *Enterococcus strains* (Oliphant *et al.*, 2002). Faktor lain yang menyebabkan kegagalan terapi adalah resistensi antibiotik, usia yang terlalu muda atau terlalu tua (usia <2 tahun dan >65 tahun), penggunaan antibiotik 3 bulan sebelumnya, dan penyakit dan terapi yang menyebabkan *immunocompromise* (Mandell *et al.*, 2007).

C. Analisa Perbandingan Efektivitas dan Biaya

Analisis perbandingan biaya menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok s.w dan kelompok i.v terhadap total biaya (9.673.300 vs 8.609.400, p value 0,440) dan biaya antibiotik (3.336.500 vs 3.830.400, p value 0.195). Analisis perbandingan efektivitas juga menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

kelompok s.w dan kelompok i.v terhadap nilai LOS (12,74 vs 11,56 hari p value 0.602) dan LOSAR (10,81 vs 10,04 hari p value 0.413). Sebuah penelitian RCT menyatakan bahwa penggantian terapi antibiotik dari intravena ke antibiotik oral dengan kriteria penggantian yang detail dapat menurunkan lama rawat inap (Health Quality Ontario, 2013).

Namun jika dilihat dari analisis farmakoekonomi kelompok s.w memiliki rasio efektivitas lebih baik jika dibandingkan kelompok i.v (263.100 vs 339.400 rupiah biaya antibiotik per hari LOSAR, p value 0.025) (Tabel 4).

Tabel 4. Perbandingan efektivitas dan biaya

Parameter	Kelompok i.v	Kelompok s.w	P value
LOS (hari)	11,56	12,74	0,602
LOSAR (hari)	10,03	10,81	0,413
Biaya Antibiotik	3.830.400	3.336.000	0,195
Biaya Total	8.609.400	9.673.300	0,440
Farmakoekonomi (biaya/t)	33,94	26,31	0.025*

Kekurangan dari penelitian ini adalah data dari kedua kelompok tidak terdistribusi normal, kriteria penggantian dari antibiotik intravena ke oral antibiotik tidak ditentukan secara detail oleh peneliti. Kriteria penggantian terapi biasanya adalah kondisi hemodinamik pasien yang sudah stabil, tidak adanya demam, dan pasien mampu mengkonsumsi obat per oral (Health Quality Ontario, 2013).

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggantian terapi antibiotik dari rute intravena ke rute per oral, saat kondisi pasien sudah mulai membaik, memiliki nilai efektifitas biaya yang lebih baik dibandingkan penggunaan terapi antibiotik intravena secara terus menerus pada pasien pneumonia selama di rumah sakit.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini adalah penelitian mandiri dan tidak mendapat bantuan dana dari institusi publik atau perusahaan farmasi. Peneliti mengucapkan banyak terima kasih terhadap pihak rumah sakit yang memberikan data penelitian.

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

DAFTAR PUSTAKA

- Ambroggio, L., Taylor, J. A., Tabb, L. P., Newschaffer, C. J., Evans, A. A., Shah, S. S., 2012, Comparative Effectiveness of Empiric β -Lactam Monotherapy and β -Lactam–Macrolide Combination Therapy in Children Hospitalized with Community-Acquired Pneumonia, *J. Pediatr*, 161, 1097–1103
- Frei, C. R., Labreche, M. J., Attridge, R. T., 2011, Fluoroquinolones in Community-acquired Pneumonia: Guide to Selection and Appropriate Use, *Drugs*, 71: 757–770
- Health Quality Ontario, 2013, Criteria for Switching from Intravenous to Oral Antibiotics in Patients Hospitalized with Community-acquired Pneumonia: A Rapid Review. Toronto: Health Quality Ontario; 2013 November. 23p. Available from: <http://www.hqontario.ca/evidence/publications-and-ohtac-recommendations/rapid-reviews>
- Koda-Kimble, M. A., Young, L. Y., Kradjan, W. A., Guglielmo, B. J., Alldredge, B. K., PharmD, R. L. C., Williams, B. R. (Eds.), 2008, *Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs*, Point, Ninth. Ed, Lippincott Williams & Wilkins
- Kohno, Shigeru, *et al.*, 2013, Early Switch Therapy from Intravenous Sulbactam/Ampicillin to Oral Garenoxacin in Patients with Community-acquired Pneumonia: A Multicenter, Randomized Study in Japan, *Journal of Infection and Chemotherapy*, 19(6): 1035-1041
- Mandell, L.A., Wunderink, R. G., Anzueto, A., Bartlett, J. G., Campbell, G. D., Dean, N. C., Dowell, S. F., File, T. M., Jr, Musher, D. M., Niederman, M. S., Torres, A., Whitney, C. G., Infectious Diseases Society of America, American Thoracic Society, 2007, Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults, *Clin. Infect. Dis.*, 44(2): S27–72
- Martin, M., Moore, L., Quilici, S., Decramer, M., Simoens, S., 2008, A Cost-Effectiveness Analysis of Antimicrobial Treatment of Community-acquired Pneumonia Taking into Account Resistance in Belgium, *Curr Med Res Opin*, 24: 737–751
- Mertz, Dominik, *et al.*, 2009, Outcomes of Early Switching from Intravenous to Oral Antibiotics on Medical Wards, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, dkp131
- Oliphant, C. M., Green, G. M., 2002, Quinolones: A Comprehensive Review. *Am. Fam. Physician*. 65: 455–464
- Sevinc, F., Prins, J. M., Koopmans R. P., *et al.*, 1999, Early Switch from Intravenous to Oral Antibiotics: Guidelines and Implementation in a Large Teaching Hospital, *J. Antimicrob Chemother*, 43: 601
- Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Sutriyanto, E., 2011, Gawat! Indonesia Peringkat ke 6 Kejadian Pneumonia Terbesar, [Tribunnews.com](http://tribunnews.com)

Thiem, U., Heppner, H.-J., Pientka, L., 2011, Elderly Patients with Community-Acquired Pneumonia Optimal Treatment Strategies, *Drugs & Aging*, 28: 519–537

Vila-Corcoles, Angel, *et al.*, 2009, Epidemiology of Community-Acquired Pneumonia in Older Adults: A Population-Based Study, *Respiratory Medicine*, 103(2): 309–316

EVALUASI POTENSI INTERAKSI OBAT—OBAT PADA PASIEN RAWAT INAP PENDERITA INFEKSI SALURAN KEMIH DI RSD dr. SOEBANDI JEMBER

Imelda Rosa Indira, Antonius N. W. Pratama, Ema Rachmawati
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: imeldaindira@gmail.com

Abstrak

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Penyakit ISK terjadi sebanyak 8,1 juta kasus per tahun. Adanya penyakit penyerta mengharuskan kombinasi antibiotik dengan obat lain yang perlu mendapatkan perhatian khusus karena adanya potensi interaksi yang dapat memicu resistensi. Penggunaan obat dari golongan lain pada ISK untuk meringankan mual, muntah, demam, nyeri, disuria, dan terdesak kencing. Tujuan dari studi retrospektif ini adalah untuk mengetahui potensi terjadinya interaksi obat pada terapi ISK pasien rawat inap di RSD dr. Soebandi, Jember. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui mekanisme dan tingkat keparahan potensi interaksi yang terjadi. Metode yang digunakan adalah retrospektif dengan teknik pengumpulan data secara *total sampling* dari rekam medis pasien rawat inap selama periode Januari-Desember 2014. Dari 59 pasien yang memenuhi kriteria inklusi, 25 (42,4%) pasien mengalami interaksi obat yang relevan. Dari 58 kejadian interaksi obat yang relevan, sebanyak 3 (3,8%) kasus interaksi kategori *major*, 42 (72,4%) kasus interaksi kategori *moderate*, dan 13 (16,5%) kasus interaksi kategori *minor*. Sebanyak 23 (39,7%) kejadian interaksi farmakodinamik dan 35 (60,3%) kejadian interaksi farmakokinetik. Separuh interaksi farmakokinetik (31%) terjadi pada proses absorpsi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada umumnya interaksi yang terjadi tidak menimbulkan efek yang fatal. Beberapa efek yang fatal bisa diatasi dengan pengaturan jam atau pemberian obat lain yang tidak menimbulkan interaksi.

Kata Kunci: interaksi, obat-obat, infeksi saluran kemih.

V. PENDAHULUAN

Secara global infeksi saluran kemih masih menjadi masalah kesehatan yang penting dan banyak dijumpai di berbagai unit pelayanan kesehatan dasar hingga subspecialistik (Kusnan, 2014). Di negara-negara berkembang penyakit infeksi masih menempati urutan pertama dari penyebab sakit di masyarakat (Nelwan, 2002). Menurut *National Kidney and Urologic Diseases Information Clearinghouse* (NKUDIC), ISK merupakan penyakit infeksi kedua tersering setelah infeksi saluran pernafasan yaitu sebanyak 8,1 juta kasus per tahun. Jumlah pasien ISK perempuan dua kali lipat lebih banyak

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

dibandingkan pasien laki-laki yaitu 1,2% versus 0,6% (Foxman, 2003). Sekitar 1 dari 3 perempuan menderita penyakit infeksi saluran kemih pada usia 24 tahun. Infeksi pada pria lebih sedikit terjadi sampai usia 65 tahun, di mana titik tingkat insiden pada laki-laki dan perempuan adalah sama (Coyle dan Prince, 2008).

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah suatu reaksi inflamasi sel-sel urotelium melapisi saluran kemih, sebagai bentuk pertahanan yang disebabkan karena masuknya bakteri ke dalam saluran kemih dan berkembangbiak di dalam media urin (Purnomo, 2003). Komplikasi ISK yang paling berat adalah urosepsis yang menyumbang angka kematian yang tinggi yaitu 25% sampai 60% di Amerika Serikat dan Eropa dan bisa menyebabkan terjadinya gagal ginjal akut yang dapat mengancam nyawa penderita penyakit ini (Kusnan, 2014). Seseorang dapat dicurigai sebagai penderita ISK apabila ditemukan bakteri di dalam urin karena pada saluran kemih normal tidak dihuni oleh bakteri aerob atau mikroba lain (Kumala *et al.*, 2009). Mikroorganisme yang paling sering ditemukan sebagai penyebab ISK adalah jenis aerob yaitu *Escherecia coli*, *Klebsiella aerogenes*, dan *Acinetobacter calcoaceticus* (Samirah *et al.*, 2006).

Antibiotik merupakan golongan obat yang paling banyak digunakan di dunia untuk mengatasi penyakit yang terjadi akibat adanya infeksi bakteri. Di negara berkembang 30-80% penderita yang dirawat di rumah sakit mendapatkan terapi antibiotik. Dari persentase tersebut ditemukan 20-65% penggunaan antibiotiknya dianggap tidak tepat (Febrianto *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian di rumah sakit BLU dr. Wahidin Sudirohusodo, Makasar pada tahun 2009 ditemukan 36,90% penggunaan kombinasi antibiotik yang perlu mendapatkan perhatian khusus karena adanya potensi interaksi (Cakrawadi *et al.*, 2011). Selain menggunakan antibiotik, tata laksana terapi ISK juga memungkinkan penggunaan obat dari golongan lain untuk meringankan gejala lain yang dapat dirasakan pasien ISK, yaitu mual, muntah, demam, disuria, dan terdesak kencing yang biasanya terjadi bersamaan disertai nyeri suprapubik dan daerah pelvis (Israr, 2009). Penggunaan lebih dari satu jenis obat dalam suatu proses terapi dapat disebut dengan polifarmasi. Polifarmasi adalah kombinasi obat yang dapat berupa kombinasi tetap dan kombinasi tidak tetap. Salah satu akibat dari polifarmasi yaitu semakin besarnya risiko interaksi obat (Tan dan Rahardja, 2002).

Interaksi obat merupakan perubahan efek obat utama oleh pemberian obat lain sebelumnya atau secara bersamaan. Penggunaan antibiotik seringkali disertai dengan *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

obat lain untuk mengatasi gejala lain atau komplikasi dari penyakit ini sehingga dapat menimbulkan interaksi antarobat. Selain itu, interaksi obat juga memiliki dampak yang berbeda-beda bila ditinjau dari tingkat keparahan interaksi sehingga perlu dimonitoring.

VI. METODE PENELITIAN

A. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah pasien rawat inap dengan diagnosa ISK di RSD dr. Soebandi Jember periode Januari 2014 - Desember 2014 sebanyak 59 orang yang memenuhi kriteria inklusi Pasien ISK dengan atau tanpa penyakit penyerta, memiliki Data Rekam Medik yang lengkap dan terbaca, serta menggunakan obat lebih dari 1 macam.

B. Instrumen Penelitian dan Pengambilan Data

Instrumen penelitian adalah data rekam medik pasien ISK. Cara perolehan data dilakukan melalui sumber informasi Data Rekam Medik di RSD dr. Soebandi Jember diketahui jumlah dan nomor Data Rekam Medik dengan diagnosis ISK, pengelompokan lembar Data Rekam Medik pasien diagnosis ISK mulai Januari 2014-Desember 2014, pencatatan data ke dalam Lembar Pengumpul Data (LPD) yang meliputi nomor Data Rekam Medik dan tanggal masuk-keluar rumah sakit, identitas pasien, diagnosis, penggunaan obat/ terapi, dan keterangan (sembuh/ membaik/ pulang/ mati).

C. Penyajian Data

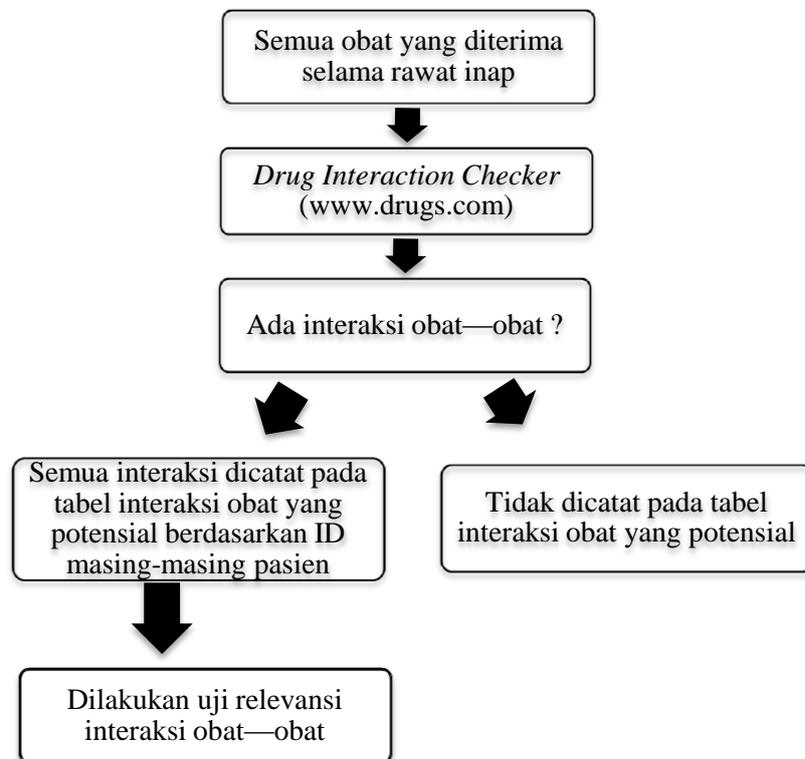
Data yang diperoleh dikelompokkan per pasien dalam satu tabel yang terdiri atas nomor Data Rekam Medik, identitas pasien (inisial, jenis kelamin, usia, berat badan, tinggi badan), diagnosis, nama antibiotik dan obat lain yang digunakan, dosis, rute penggunaan dan lama pemberian.

D. Analisis Data

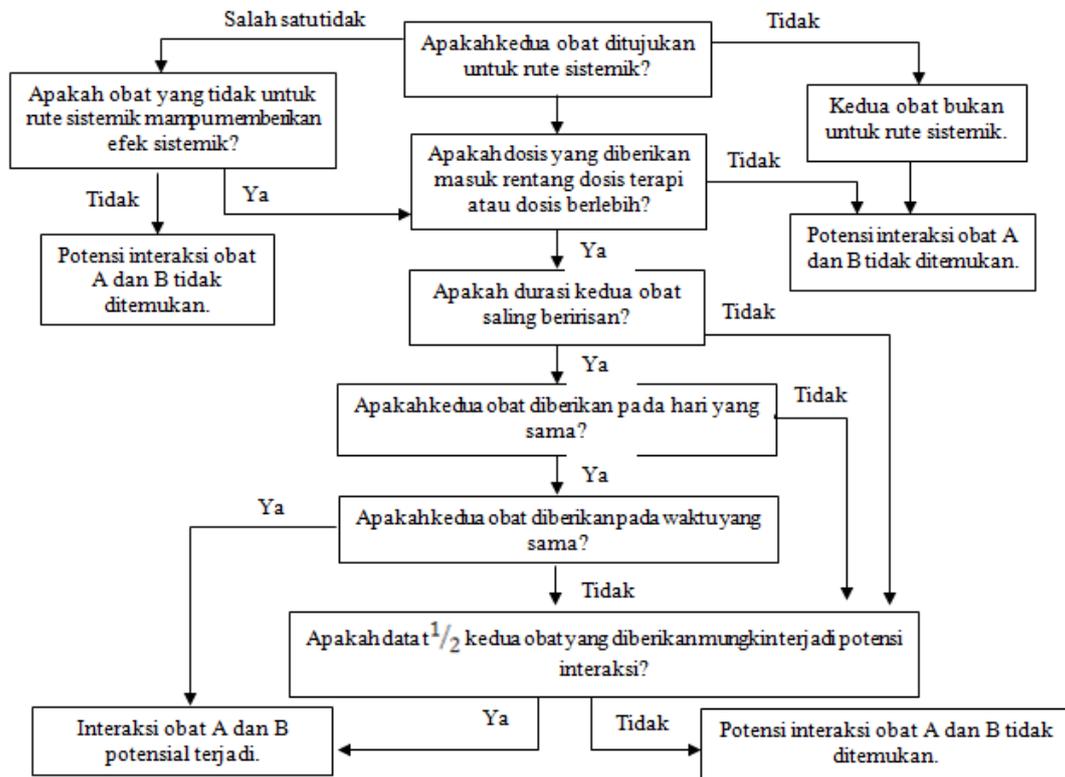
Cara menganalisis data dengan mencatat obat yang digunakan pada pengobatan infeksi saluran kemih pada pasien yang menjalani rawat inap di RSD dr. Soebandi Jember. Melihat potensi interaksi obat pada literatur situs www.drugs.com(Gambar 1). Setiap interaksi obat yang potensial, dianalisis relevansinya pada masing-masing pasien berdasarkan kriteria rute penggunaan, dosis yang mencapai efek terapi, waktu penggunaan, dan $t_{1/2}$ kedua obat (Gambar 2). Mengklasifikasikan mekanisme interaksi yang dapat terjadi pada pada pasien yang menjalani rawat inap di RSD dr. Soebandi

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Jember menjadi interaksi farmakodinamik dan farmakokinetik yang dibuat dalam bentuk tabel. Mekanisme interaksi dilihat dari literatur yang dipercaya yaitu situs www.drugs.com yang dibuat oleh *Wolters Kluwer Health, American Society of Health-System Pharmacists, Cerner Multum and Micromedex from Truven Health*. Data yang sudah diklasifikasikan berdasarkan mekanisme interaksi dihitung dan dibuat dalam bentuk presentase untuk melihat banyaknya kasus yang terjadi. Data pasien yang ada dikelompokkan dan diolah berdasarkan tingkat keparahan potensi kejadian interaksi obat *major, moderate, dan minor* pada terapi ISK pasien rawat inap di RSD dr. Soebandi. Dari data tersebut didapatkan total kasus yang terjadi pada masing-masing taraf signifikansi lalu dibuat dalam bentuk presentase.



Gambar 1. Diagram pengecekan interaksi obat-obat yang potensial pada pasien ISK



Gambar 2. Diagram pengecekan relevansi interaksi obat—obat yang potensial pada pasien ISK

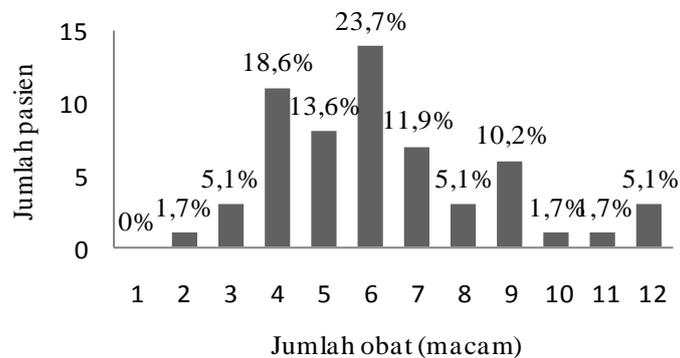
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada periode 1 Januari-31 Desember 2014, tercatat 60 pasien ISK rawat inap di RSD dr. Soebandi. Dari 60 pasien, 59 (98,3%) pasien memenuhi kriteria inklusi untuk penelitian.

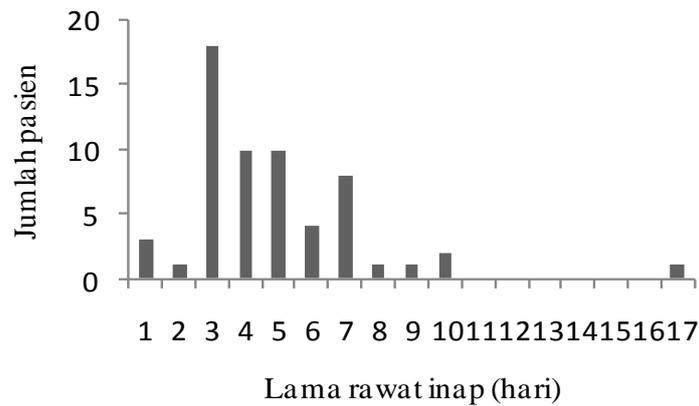
Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa penyakit ISK rata-rata terjadi pada usia 38 ± 12 tahun dan hampir tiga perempat sampel adalah wanita. Pasien ISK umumnya tidak mengalami penyakit lain saat didiagnosa. Hampir seperempat pasien menggunakan 6 macam obat (Gambar 3). Jumlah macam obat yang diberikan kepada pasien ISK umumnya hingga mencapai 9 obat, akan tetapi 5 pasien lainnya menerima lebih banyak. Pasien yang dirawat inap karena diagnosa ISK di RSD dr. Soebandi sebagian besar dirawat inap selama 3 hari yaitu sebanyak 18 (30,5%) pasien (Gambar 4). Perawatan ISK di rumah sakit lebih sering dilakukan sampai 7 hari, meskipun ada 5 pasien yang dirawat inap lebih lama.

Tabel 1. Karakteristik pasien dan pengobatan

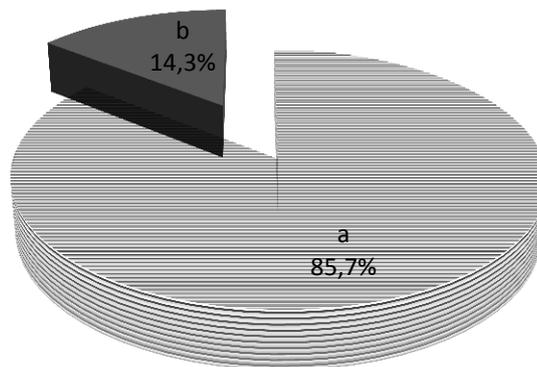
Karakteristik	
Pasien (N=59)	
Usia, rata-rata ± SD	38±12 tahun
Jenis kelamin	
- Perempuan	43 pasien (72,9%)
- Laki-laki	16 pasien (27,1%)
Diagnosa	
- Tanpa penyakit penyerta	25 pasien (42,4%)
- Dengan 1 penyakit penyerta	17 pasien (28,8%)
- Dengan 2/lebih penyakit penyerta	17 pasien (28,8%)
Pengobatan (N=63)	
Jumlah obat	
- Jumlah obat terbanyak per pasien	12 obat
- Jumlah obat paling sedikit per pasien	2 obat
- Jumlah obat per pasien, rata-rata ± SD	6±2 obat
Lama rawat inap, median (IQR), modus	4 (3-6) hari, 3 hari
Rute	
- Oral	20%
- Parenteral	78,6%
- Rektal	1,4%



Gambar 3. Grafik jumlah obat yang digunakan pasien ISK rawat inap



Gambar 4. Distribusi lama rawat inap pasien ISK



Gambar 5. Diagram interaksi obat yang tidak relevan

Keterangan:

- a. Potensi interaksi tidak relevan karena rute penggunaan tidak menyebabkan interaksi
- b. Potensi interaksi tidak relevan karena waktu penggunaan tidak bersamaan

Hampir separuh (42,4%) dari 59 pasien mengalami interaksi obat yang relevan (Tabel 2). Masing-masing sebanyak 18 (31,0%) dan 15 (25,9%) dari 58 kejadian interaksi merupakan interaksi pada proses absorpsi dan metabolisme. Sedangkan interaksi yang terjadi pada proses distribusi hanya 2 (3,4%) kejadian (Tabel 3). Interaksi *major* hanya terjadi pada farmakodinamik yaitu 3 (5,2%) kejadian dengan mekanisme penghambatan COX dan reseptor 5-HT₃ (Tabel 4).

Tabel 2. Jumlah pasien dengan potensi interaksi obat

	Jumlah (N=59)(%)
Jumlah pasien dengan minimal satu potensi interaksi obat yang relevan	25 pasien (42,4%)
Jumlah pasien tanpa potensi interaksi obat yang tidak relevan	4 pasien (6,8%)
Jumlah pasien yang tidak mengalami interaksi obat-obat	30 pasien (50,8%)

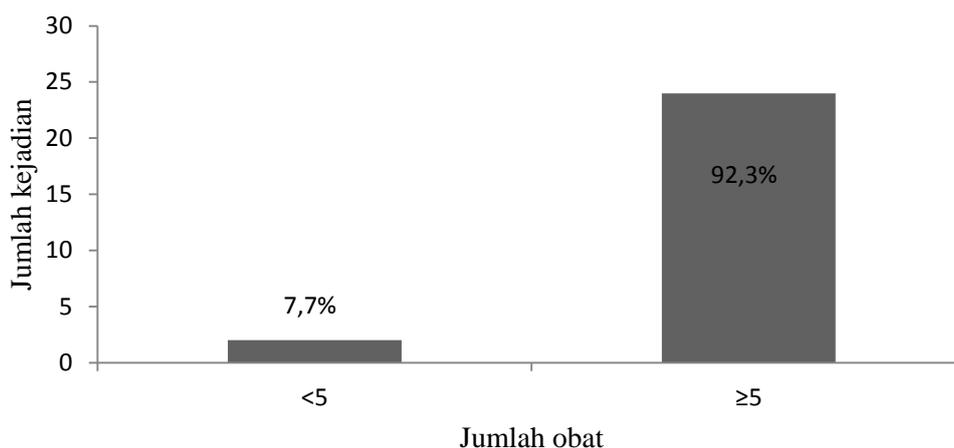
Tabel 3. Interaksi farmakokinetik dan tempat interaksinya

Tempat interaksi	Obat A	Obat B	Severity	Jumlah interaksi (N=58)(%)
Absorpsi	<i>Allopurinol</i>	<i>Antacids</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Allopurinol</i>	<i>Sucralfate</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Antacids</i>	<i>Bisacodyl</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Levofloxacin</i>	<i>Sucralfate</i>	<i>Moderate</i>	3 (5,2)
	<i>Chloroquine</i>	<i>Antacids</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Antacids</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Lansoprazole</i>	<i>Sucralfate</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Sucralfate</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Antacids</i>	<i>Levofloxacin</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Digoxin</i>	<i>Sucralfate</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Fluconazole</i>	<i>Antacids</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Butylscopolamine</i>	<i>Digoxin</i>	<i>Minor</i>	1 (1,7)
	<i>Butylscopolamine</i>	<i>Paracetamol</i>	<i>Minor</i>	2 (3,4)
	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Omeprazole</i>	<i>Minor</i>	1 (1,7)
<i>Chlordiazepoxide</i>	<i>Antacids</i>	<i>Minor</i>	1 (1,7)	
Distribusi	<i>Chlordiazepoxide</i>	<i>Digoxin</i>	<i>Moderate</i>	2 (3,4)
Metabolisme	<i>Chlordiazepoxide</i>	<i>Omeprazole</i>	<i>Moderate</i>	4 (6,9)
	<i>Cefotaxime</i>	<i>Furosemide</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Ceftriaxone</i>	<i>Furosemide</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Diazepam</i>	<i>Propranolol</i>	<i>Minor</i>	1 (1,7)
	<i>Paracetamol</i>	<i>Ranitidine</i>	<i>Minor</i>	1 (1,7)
	<i>Digoxin</i>	<i>Omeprazole</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Digoxin</i>	<i>Pantoprazole</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
	<i>Fluconazole</i>	<i>Pantoprazole</i>	<i>Moderate</i>	1 (1,7)
Metabolisme Eliminasi	<i>Ketorolac</i>	<i>Ranitidine</i>	<i>Minor</i>	4 (6,9)

Tabel 4. Interaksi farmakodinamik dan mekanismenya

Mekanisme	Obat A	Obat B	Severity
Sama-sama menghambat COX sehingga meningkatkan efek samping NSAID.	<i>Ibuprofen</i>	<i>Ketorolac</i>	<i>Major</i>
	<i>Ketoprofen</i>	<i>Ketorolac</i>	<i>Major</i>
Ondansetron menghambat reseptor serotonin 5-HT ₃ sehingga menurunkan efek analgesic tramadol.	<i>Ondansetron</i>	<i>Tramadol combinations</i>	<i>Major</i>
Bisacodyl memberi efek hipokalemia dan hipomagnesia yang juga menyebabkan perpanjangan interval QT.	<i>Bisacodyl</i>	<i>Levofloxacin</i>	<i>Moderate</i>
Laksatif menyebabkan kehilangan elektrolit sehingga mempotensiasi efek diuretik.	<i>Bisacodyl</i>	<i>Furosemide</i>	<i>Moderate</i>
Sama-sama memiliki efek perpanjangan interval QT.	<i>Levofloxacin</i>	<i>Ondansetron</i>	<i>Moderate</i>
	<i>Chloroquine</i>	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Moderate</i>
	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Ondansetron</i>	<i>Moderate</i>
Cincin piperazin menghambat ikatan GABA di reseptor otak dan NSAID sinergis dengan efek ini.	<i>Ketorolac</i>	<i>Levofloxacin</i>	<i>Moderate</i>
	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Ketorolac</i>	<i>Moderate</i>
	<i>Ciprofloxacin</i>	<i>Ketoprofen</i>	<i>Moderate</i>
	<i>Levofloxacin</i>	<i>Meloxicam</i>	<i>Moderate</i>
Menyebabkan perpanjangan QT dan aritmia ventrikel.	<i>Fluconazole</i>	<i>Levofloxacin</i>	<i>Moderate</i>
	<i>Fluconazole</i>	<i>Ondansetron</i>	<i>Moderate</i>
Sulfamethoxazole dan trimethoprim menyebabkan perpanjangan interval QT dan Levofloxacin memberi efek aditif.	<i>Levofloxacin</i>	<i>Sulfamethoxazole and trimethoprim</i>	<i>Minor</i>
	<i>Ondansetron</i>	<i>Sulfamethoxazole and trimethoprim</i>	<i>Minor</i>

Sebanyak 43 (72,9%) pasien ISK menerima lima obat atau lebih. Dari total 58 potensi interaksi hampir seluruhnya (92,3%) terjadi pada pasien yang menerima obat sebanyak lima atau lebih (Gambar 6).



Gambar 6. Grafik potensi interaksi obat berdasarkan jumlah obat yang diterima pasien ISK

Pada penelitian ini, sebanyak 72,9% pasien ISK adalah wanita. Hal ini disebabkan oleh sejumlah faktor seperti struktur anatomis saluran kemih perempuan, riwayat kehamilan, menopause, dan aktivitas seksual. Uretra perempuan lebih pendek dari laki-laki serta dekat dengan anus, sehingga mempermudah bakteri untuk berpindah ke dalam saluran kemih. Kehamilan dikaitkan dengan kejadian bakteriuria asimtomatis. Setelah menopause, sekresi estrogen yang berfungsi sebagai pencegah kolonisasi vaginal dari *Enterobacteriaceae* mengalami reduksi signifikan. Selain itu, aktivitas seksual juga menyebabkan berkembangnya ISK pada wanita premenopause (Sumolang *et al.*, 2013). Rata-rata pasien ISK berumur 38 ± 12 tahun dengan angka kejadian tertinggi pada usia 30-39 tahun dan tren peningkatan terjadi pada usia 20-59 tahun. kejadian bakteriuria di wanita meningkat sesuai dengan bertambahnya usia dan penyakit menular seksual menyebabkan seseorang berisiko tinggi terserang penyakit (Samirah *et al.*, 2006; Melati *et al.*, 2015).

Sebanyak 25 (42,4%) pasien yang didiagnosis ISK tanpa adanya penyakit penyerta dan 34 (57,6%) pasien dengan penyakit penyerta seperti *chronic kidney disease* (CKD) dan batu saluran kemih (BSK). CKD dapat disebabkan oleh mikroorganisme penyebab ISK yang dapat berpindah ke ginjal dan menyebabkan inflamasi di ginjal akibat infeksi bakteri (Israr, 2009). Sedangkan BSK dapat mengakibatkan lesi pada saluran kemih yang akan memudahkan bakteri menginfeksi saluran kemih (Febrianto *et al.*, 2013).

Rata-rata macam obat yang digunakan per pasien adalah 6 ± 2 obat sehingga polifarmasi jelas terjadi di sini dan meningkatkan risiko potensi interaksi obat (BPOMRI, 2008). Dari hasil penelitian ini sebanyak 43 (72,9%) pasien ISK menerima lima obat atau lebih. Dari total 58 potensi interaksi hampir seluruhnya (92,3%) terjadi pada pasien yang menerima obat sebanyak lima atau lebih. Hal ini berarti semakin banyak jumlah obat yang digunakan pasien ISK maka akan semakin besar potensi interaksi yang terjadi. pemberian lebih dari lima obat dapat meningkatkan kejadian interaksi obat-obat sebanyak 6,9 kali dibandingkan pasien yang menerima kurang dari lima obat (Namazi *et al.*, 2014).

Lebih dari separuh (60,3%) interaksi yang terjadi merupakan interaksi farmakokinetik dan separuhnya (31%) terjadi pada proses absorpsi. Hal ini disebabkan adanya obat yang digunakan untuk menaikkan pH lambung seperti golongan *antacids* sehingga mempengaruhi absorpsi dari obat lain yang digunakan secara oral. Banyak obat yang dapat rusak oleh asam lambung atau tidak dapat diabsorpsi saat diberikan secara oral, sehingga pemberian obat secara intravena menjadi pilihan yang tepat untuk obat dengan sifat tersebut (Nasif *et al.*, 2013). Sebanyak 18 (31%) kejadian interaksi terjadi pada absorpsi oleh obat-obat yang meningkatkan pH lambung seperti *antacids* dan *sucralfate* sehingga mempengaruhi absorpsi obat lain yang digunakan bersama secara oral seperti *allopurinol*, *bisacodyl*, *chloroquine*, *digoxin*, *chlordiazepoxide*, dan antibiotik seperti *levofloxacin* dan *ciprofloxacin*.

Interaksi farmakodinamik yang paling banyak terjadi adalah interaksi *levofloxacin* dan *ondansetron* yaitu sebanyak 5 (8,6%) kejadian interaksi. Penggunaan *levofloxacin* dan *ondansetron* secara bersamaan dapat mengakibatkan efek aditif dalam perpanjangan interval QT dan meningkatkan risiko aritmia ventrikel hingga menyebabkan kematian pada pasien. Interaksi farmakodinamik lain seperti *ketorolac* dan *levofloxacin* sebanyak 2 (3,4%) kejadian interaksi. Penggunaan *fluoroquinolone* bersamaan NSAID dapat mempotensiasi risiko toksisitas sistem saraf pusat. Cincin piperazin dari *fluoroquinolone* dapat menghambat pengikatan asam *gamma-aminobutyric* (GABA) ke reseptor otak dan NSAID dapat sinergis menambah efek ini. Pasien dengan riwayat kejang beresiko lebih besar.

Dari hasil penelitian ditemukan 3 (3,8%) kejadian interaksi *major*, 42 (53,2%) kejadian interaksi *moderate*, dan 13 (16,5%) kejadian interaksi *minor*. Potensi interaksi

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

yang paling berbahaya adalah *major* yang berpotensi mengancam jiwa atau menyebabkan kerusakan permanen. Potensi interaksi *moderate* dapat menyebabkan memburuknya status klinis pasien, sehingga pengobatan tambahan, rawat inap, dan/atau diperlukan perpanjangan pengobatan di rumah sakit. Sedangkan potensi interaksi yang paling ringan disebut *minor* yang biasanya menyebabkan efek ringan, cukup mengganggu atau terlihat tetapi tidak signifikan mempengaruhi hasil terapi sehingga pengobatan tambahan biasanya tidak diperlukan. Bila dilihat dari hasil yang diperoleh, potensi interaksi *major* seharusnya paling sedikit terjadi karena sangat berbahaya bagi pasien (Bailie *et al.*, 2004).

Interaksi *major* yang terjadi adalah *ibuprofen*, *ketoprofen*, dan *ketorolac* sebanyak 1 (1,7%) kejadian interaksi. Penggunaan *ketorolac* yang dikombinasi dengan obat NSAID seperti *ibuprofen* dan *ketoprofen* dapat meningkatkan risiko efek samping NSAID yang serius termasuk gagal ginjal dan radang pencernaan, perdarahan, ulserasi, dan perforasi. Interaksi *major* yang lain adalah *ondansetron* dan *tramadol* sebanyak 1 (1,7%) kejadian interaksi. Penggunaan antagonis reseptor 5-HT₃ dengan agen yang meningkatkan aktivitas serotonergik seperti *tramadol* dapat mempotensiasi risiko sindrom serotonin. Hasil dari hiperstimulasi batang otak reseptor 5-HT_{1A} dan 2A dapat berpotensi fatal. Dalam penelitian Witte *et al.* (2001) studi acak dari 40 pasien, penggunaan tramadol 26%-35% lebih tinggi pada kelompok ondansetron 4 jam pertama pasca operasi dan 22%-25% lebih tinggi setelahnya (Witte *et al.*, 2001).

Potensi interaksi obat yang paling banyak terjadi adalah *levofloxacin* dan *ondansetron* yang merupakan potensi interaksi *moderate* terbanyak yaitu 5 (8,6%) kejadian dari total 58 kejadian interaksi. *Quinolone* tertentu, termasuk *levofloxacin*, *norfloksasin*, dan *ofloksasin*, dapat menyebabkan perpanjangan dosis interval QT pada beberapa pasien. Secara teoritis, pemberian bersamaan dengan agen lain yang dapat memperpanjang interval QT dapat mengakibatkan efek aditif dan peningkatan risiko aritmia ventrikel termasuk *torsade de pointes* dan kematian mendadak (Kapadia *et al.*, 2013).

Interaksi *minor* yang banyak terjadi pada penelitian ini adalah interaksi *ketorolac* dan *ranitidine* yaitu 4 (6,9%) kejadian interaksi yang termasuk interaksi farmakokinetik pada metabolisme dan eliminasi. Antagonis histamin H₂ dapat mengubah disposisi NSAID, sehingga konsentrasi plasma meningkat atau menurun.

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Mekanisme interaksi terjadi pada penghambatan metabolisme, perubahan pH lambung yang mengurangi penyerapan, dan / atau dikurangi eliminasi urin. Namun dianjurkan pemantauan klinis dari respon pasien dan toleransi.

Potensi interaksi yang diharapkan pada pasien hanya pada kategori *moderate* dan *minor* karena potensi interaksinya relatif aman. Bila dilihat dari jumlah potensi interaksi yang terjadi, maka penelitian ini sudah sesuai. Potensi interaksi yang perlu dihindari adalah interaksi dengan kategori *major* yang berakibat fatal dan membahayakan nyawa pasien. Untuk menghindari terjadinya potensi interaksi diperlukan pengaturan jam, pemberian obat lain yang tidak berinteraksi, atau pemberian obat melalui jalur lain untuk menghindari adanya interaksi obat.

VII. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa dari 59 pasien yang menggunakan 63 macam obat terdapat 25 (42,4%) pasien berpotensi mengalami interaksi obat relevan dengan 58 kejadian. Sebanyak 23 (39,7%) kejadian interaksi farmakodinamik dan 35 (60,3%) kejadian interaksi farmakokinetik. Separuh interaksi farmakokinetik (31%) terjadi pada proses absorpsi karena adanya obat golongan *antacids* yang mempengaruhi absorpsi dari obat lain secara oral sehingga dianjurkan untuk menyesuaikan jamnya atau menggunakan obat lain yang berinteraksi melalui intravena. Tingkat keparahan potensi kejadian interaksi obat pada terapi ISK pasien rawat inap di RSD dr. Soebandi Jember kategori *major* sebanyak 3 (3,8%) kasus interaksi dan kategori *moderate* sebanyak 42 (72,4%) kasus interaksi yang dapat dihindari dengan pengaturan jam atau pemberian obat lain yang tidak menimbulkan interaksi.

DAFTAR PUSTAKA

Cakrawadi, Wahyudin, E., dan Saruddin, B., 2011, Pola Penggunaan Antibiotik pada Gastroenteritis Berdampak Diare Akut Pasien Anak Rawat Inap di Badan Layanan Umum Rumah Sakit Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar Selama Tahun 2009, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 15(2): 69 – 72

Coyle, E. A. dan Prince, R. A., 2008, *Urinary Tract Infections and Prostatitis*. Dalam: Dipro *et al*, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 7th Edition: Mc Graw Hill Companies Inc: 1899-1913

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

- Febrianto, A. W., Mukaddas, A., dan Faustine, I., 2013, Rasionalitas Penggunaan Antibiotik pada Pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK) di Instalasi Rawat Inap RSUD Undata Palu Tahun 2012, *Online Jurnal of Natural Science*, 2(3): 2338-0950
- Foxman, B., 2003, *Epidemiology of Urinary Tract Infections: Incidence, Mobidity, and Economic Costs*, *Dis Mon Journal*, (49):53-70
- Israr, Y. A., 2009, *Infeksi Saluran Kemih (ISK)*, Riau: Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Riau
- Kumala, S., Raisa, N., Rahayu, L., dan Kirana, A., 2009, Uji Kepekaan Bakteri yang Diisolasi dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK) terhadap Beberapa Antibiotika pada Periode Maret–Juni 2008, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 6(2): 1693-9883
- Kusnan, A., 2014, Faktor Risiko Kejadian Infeksi Saluran Kemih pada Ibu Hamil di Laboratorium Prodia, *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(1): 2355-312X
- Nelwan, R. H. H., 2002, Pemakaian Antimikroba secara Rasional di Klinik, dalam *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Jakarta : Balai Penerbit FKUI
- Purnomo, B. B., 2003, *Dasar-Dasar Urologi Edisi II*, Jakarta: CV Sagung Seto
- Samirah, Darwati, Windarwati, dan Hardjoeno, 2006, Pola Sensitivitas Kuman di Penderita Infeksi Saluran Kemih, *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 12(3): 110-113
- Tan, H. T., dan Rahardja, K., 2002, *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Jakarta: Elex Media Komputindo
- Sumolang, C. A. S., Porotu'o, J., dan Soeliongan, S., 2013, Pola Bakteri pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di BLU RSUP Prof. dr. R. D. Kandou Manado, *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 1(1): 597-601
- Melati, A. R., Porotu'o, J., dan Rares, S. E. F., 2015, Pola Bakteri Infeksi Saluran Kemih di Poliklinik Kulit dan Kelamin BLU RSUP Prof. dr. R. D. Kandou Manado Periode November 2010 – November 2012, *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 3(1)
- BPOM RI, 2008, Penggunaan Obat pada Usia Lanjut, *InfoPOM*, 9(5): 1829-9334
- Namazi, S., Pourhatami, S., Haghghi, A. B., dan Roosta, S., 2014, Incidence of Potential Drug-Drug Interaction and Related Factors in Hospitalized Neurological Patients in two Iranian Teaching Hospitals, *Iran J Med Sciences*, 39(6): 515-521

- Nasif, H., Yuned, M., dan Muchtar, H., 2013, Kajian Penggunaan Obat Intravena di SMF Penyakit Dalam RSUD dr. Achmad Mochtar Bukittinggi, *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 18(1): 1410-0177
- Bailie, G. R., Johnson, C. A., Mason, N. A., dan Peter, W. L. S., 2004, *Medfacts Pocket Guide of Drug Interactions Second Edittion*, Nephrology Pharmacy Associates
- Witte, J. L. D., Schoenmaekers, B., Sessler, D. I., dan Deloof, T., 2001, The Analgesic Efficacy of Tramadol is Impaired by Concurrent Administration of Ondansetron, *Anesthesia & Analgesia*, 92:1319–1321
- Kapadia, J., Thakor, D., Desai, C., dan Dikshit, R. K., 2013, A Study of Potential Drug-Drug Interactions in Indoor Patients of Medicine Department at a Tertiary Care Hospital, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(10): 2231-3354

CONTINUOUS USE OF ORAL CORTICOSTEROIDS AMONG AMBULATORY PATIENTS IN JEMBER DURING 2010-2011

Antonius NW Pratama, Afifah Machlaurin, Viddy A Rosyidi
Faculty of Pharmacy, The University of Jember, East Java, Indonesia
Email: anton.farmasi@unej.ac.id

Abstract

Prolonged oral corticosteroid use was reported to be associated with several adverse effects, such as fractures and increased risk of developing tuberculosis (TB). This descriptive, prospective study was to observe the pattern of oral corticosteroid use and to find correlation between age, gender, and continuous use of oral corticosteroids in Jember, East Java, Indonesia. Continuous use was defined as receiving more than one oral corticosteroid prescription, and the duration between prescriptions was less than 3 months (90 days). Data were obtained from ambulatory claim database of *Asuransi Kesehatan* (Askes) of patients aged more than 18 years visiting dr. Soebandi Hospital, Jember from January 1, 2010 to October 31, 2011. Consecutively, 366 oral corticosteroid users were followed until October 31, 2011 starting from the time they received the first prescription. This study found that 14.9% (3,275/2,1907) Askes ambulatory patients accepted oral corticosteroid prescriptions. A number of 44.0% (160/366) patients were continuous users of oral corticosteroid with median (IQR) duration of use of 56 (20.5—133) days. Almost all patients (98.6%, 361/366) received dexamethasone 0.5 mg at a point of time. Multiple linear regression analysis showed positive, statistically significant ($p=0.015$) correlation between age, gender, interaction of both, and the logarithmic duration of continuous use of oral corticosteroid. Men were more likely to use oral corticosteroid than women after their 53th birthday. In conclusion, concern to prolonged use of oral corticosteroid should be more focused in older males than females in Jember.

Keywords: oral corticosteroid, pharmacoepidemiology, Jember, Indonesia, continuous use of medication, outpatient

I. INTRODUCTION

Corticosteroid drugs have been used for more than 75 years in modern medicine for several inflammatory-mediated diseases. The first synthetic corticosteroid, cortisol, was invented in 1939 by Edward Kendall and Tadeus Reichstein (Bouvard, Legrand, Audran, & Chappard, 2010; Marques, Silverman, & Sternberg, 2009). Following this invention two more corticosteroids, prednisolone and methylprednisolone, were first synthesized during 1950-1960 (Bouvard *et al.*, 2010). Pharmacodynamic properties of

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

corticosteroids as anti-inflammatory and immunosuppressive agents on rheumatoid patients were first introduced in 1948 by Philip Hench and colleagues (Hunter & Blyth, 1999; Marques *et al.*, 2009). These drugs have become the first line therapy for such conditions (Coutinho & Chapman, 2011).

Long-term use of corticosteroid drugs was however found to be associated with several deleterious effects. A large retrospective cohort study of 488,470 adult patients aged more than 18 years from the General Practice Research Database (GPRD) in the UK revealed that long-term use of oral corticosteroids was an independent risk factor of nonvertebral and vertebral fractures at relative rate of 1.33 (95% confidence interval, 1.29–1.38) and 2.60 (2.31–2.92), respectively (van Staa, Leufkens, Abenhaim, Zhang, & Cooper, 2000). The association was also found to be dose-related in a positive manner. In 2004, a meta-analysis was published supporting this evidence (Kanis *et al.*, 2004). Despite increasing the risk of any fracture both in male or female populations, corticosteroid use was, more importantly, linked to increased risk of tuberculosis (TB) development. Deriving data from the UK's GPRD a well-designed case-control study with up to 4 controls matched to a new case of TB on 5 criteria found that the adjusted odds ratio of TB for current, recent, and past corticosteroid users were 4.9 (95% confidence interval, 2.9–8.3), 4.3 (1.6–11.1), and 1.4 (0.9–2.1), respectively, compared to nonusers (Jick, Lieberman, Rahman, & Choi, 2006). Inhaled corticosteroid, however, did not seem a risk factor of TB as recent research from Taiwan suggested (Lee *et al.*, 2013).

The association between corticosteroid use and increasing risk of TB then becomes an important knowledge in a population whose both factors are prevalent, Indonesia for instance. In 2013, the second highest incidence of acid-fast bacilli (AFB) smear-positive sputum test for TB in Indonesia was reported from East Java province, where the city of Jember is administratively located (Ministry of Health of Republic of Indonesia, 2014). To the extent of corticosteroid use, several studies show that this group of drug is tending to be used inappropriately in resource poor settings, such as in Iraq, Pakistan, and Kenya (Farooqi, Nasir-ud-Din, Aman, Qamar, & Aziz, 1997; Kamau & Oyoo, 2013; Mansour, Odaa, & Wanoose, 2010). This may suggest the prevalent use of corticosteroid in similar settings. To our knowledge, research on the use of corticosteroids remains limited in Indonesia. By conducting a hospital-based study, this

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

research aimed to describe the pattern of oral corticosteroid use, and to define the relationship between age, gender, and continuous use of oral corticosteroids in Jember.

II. METHODS

A. Data Collection and Handling

Data of oral corticosteroid use during January 1, 2010 and October 31, 2011 in Jember were obtained from the ambulatory claim database of *Asuransi Kesehatan* (Askes), which has been renamed *Badan Penyelenggara Jaminan Sosial* (BPJS) since January 2014. Data were collected between November-December 2011 in pharmacy department of dr. Soebandi Hospital, Jember. Personal identification (member card number) and demographic information (name, date of birth, and gender) of patients were recorded into Microsoft Access database as well as the dispensing dates of prescription and the oral corticosteroid medications (International Nonproprietary Names, strength, and the dispensed number). The Askes database did not record the prescriber details, dosage regimen, and diagnosis.

Each patient aged 18 years or older was followed prospectively until October 31, 2011 after being identified receiving first oral corticosteroid treatment. If the first prescription was received 3 months (90 days) before October 31, 2011, the patients were not included in the study. Discontinuation of the treatment was applied for patients who did not refill or receive a new oral corticosteroid prescription during 3 months after their last prescription (van Staa, Leufkens, Abenhaim, Begaud, *et al.*, 2000). Sample size was calculated using StatCalc feature of Epi Info 7.1.5.2 software (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA). For a population survey or descriptive study with expected frequency of 30%, the total sample needed was 323 subjects for 95% confidence interval. Consecutive sampling method was performed. Patients who received one prescription or more were included in the study. For modelling the outcome variable, however, those who only obtained one prescription were excluded.

Outcome variable was the duration of continuous oral corticosteroid treatment, whereas the predictors were gender and age. The age of patients was calculated based on the date of birth and the dispensing date of the first prescription. The duration of oral corticosteroid treatment was the days between the first and the last prescription. The treatment duration from the last prescription was not added into the calculation because

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

the data on dosage regimen cannot be obtained. Therefore, patients who received only one prescription cannot be considered to have had continuous treatment.

B. Statistical Analyses

All statistical analyses were performed using Stata 13.0 (StataCorp LP, USA). Descriptive analysis was to show the data distribution of patient's age and gender, the types of oral corticosteroid medications, the number of prescriptions received, and the duration of treatment. Multiple linear regression was used to model the duration of continuous oral corticosteroid treatment based on gender and age of patients (and their interaction, if exists). Recorded data in Microsoft Access database were exported into a Microsoft Excel format before being imported into Stata software. Data check was performed to ensure the completeness after format changes. Outcome variable was checked to comply with the normal distribution assumption. Transformation was conducted, if necessary, depending on the type of skewness. Regression diagnostic analyses were using residual, standardised residuals, and DFbeta to identify and control outliers and influential observations. The p-value of <0.05 was considered as statistically significant.

C. Permissions and Ethical Consideration

Permissions were asked to Lembaga Penelitian Universitas Jember, Bakesbanglinmas Office in Jember, and the dr. Soebandi Hospital before data collection. The names of patients were recorded to ease data handling. None except three researchers involved in this study knew the patient name. Data were stored in digital format in password protected computers. As patient's address was not recorded, the privacy was assumed to be safe.

III. RESULTS AND DISCUSSION

During the period from 1 January 2010 to 31 October 2011 a number of 21,907 ambulatory patients were recorded in the ambulatory Askes claim database of dr. Soebandi Hospital, Jember. Of them, 14.9% (3,275/21,907) were oral corticosteroid users who received 8,174 ambulatory prescriptions. Literature on similar topic, setting, and timeframe is difficult to be accessed in full text. However, without accounting for setting and timeframe, the period prevalence of oral corticosteroid users resulted from this study was substantially lower than that point prevalence in urban Islamabad, *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Pakistan (30.5%, 78/256), but markedly higher than the point prevalence across the UK (0.9%)(Farooqi *et al.*, 1997; van Staa, Leufkens, Abenhaim, Begaud, *et al.*, 2000).

Table 1 Sample Characteristics

Characteristics	Value
Total observations	366 patients
Age, mean \pm SD	53.8 \pm 12.9 years
Female, number (%)	212 (57.9)
Duration of oral corticosteroid treatment, median, IQR	0, 0-40 days
Duration of continuous oral corticosteroid treatment, median, IQR	56, 20.5-133 days
Logarithmic duration of continuous oral corticosteroid treatment, mean \pm SD	3.9 \pm 1.2
Oral corticosteroid prescriptions, number of patients (%)	
1 prescription	206 (56.3)
2 prescriptions	71 (19.4)
3 prescriptions	38 (10.4)
4 prescriptions	16 (4.4)
5 prescriptions	8 (2.2)
6 prescriptions	10 (2.7)
7 prescriptions	5 (1.4)
8 prescriptions	5 (1.4)
9-19 prescriptions	5 (1.4)
\geq 20 prescriptions	2 (0.4)
Oral corticosteroids, number of patients (%)*	
Dexamethasone 0.5 mg	361 (98.6)
Methylprednisolone 4 mg	163 (44.5)
Methylprednisolone 8 mg	3 (0.8)
Prednisone 5 mg	67 (18.3)

SD: standard deviation; IQR: inter-quartile range; *The sum was not 100% as a patient may use more than one medications.

A number of 366 patients were followed up from their first oral corticosteroid prescription to the last one (Table 1). The duration of continuous treatment was positively skewed. Hence, logarithmic transformation was performed, yielding a better distribution. More than half of patients (206/366, 56.0%) were only received one prescription, leaving the remainder 44.0% (160/366) for multivariable analysis. More detailed, none of patients received 9 consecutive prescriptions and only two patients obtained \geq 20 continuous prescriptions in this study. If the findings by Jick and colleagues (2006) is applicable to this study, 56.0%, 42.2%, 1.4%, and 0.4% of ambulatory patients in Jember had at least 3.2, 7.0, 8.7, and 4.1 increasing risk of developing pulmonary TB than nonuser of oral corticosteroids. The risk could be higher

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

as the city was known to be prevalent in new TB cases. Almost all patients in the present study (361/366, 98.6%) were dexamethasone 0.5 mg users. Similar corticosteroid medication was used amongst nonprescription users of corticosteroids (438/682, 64.2%) in Basrah, Iraq (Mansour *et al.*, 2010).

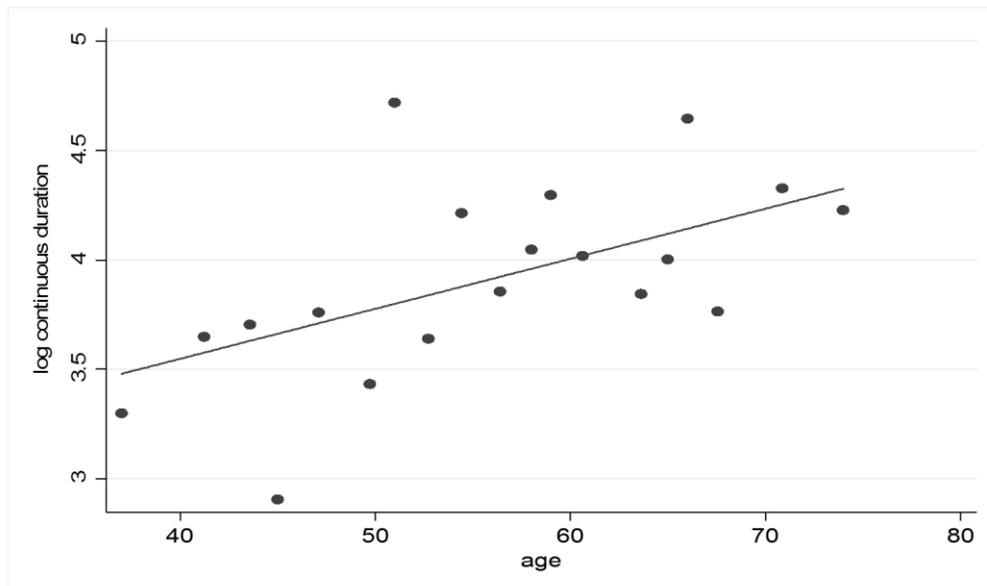


Figure 1 Scatter-plot of age vs logarithmic continuous duration of corticosteroid use

Without taking account gender into the regression analysis, the positive correlation was found between age and logarithmic duration of continuous treatment (Figure 1). However, interaction between age and gender occurred and affected the regression model (Figure 2). Positive correlation between age and logarithmic duration of continuous treatment persisted for both gender, even though the slope of regression line for males was steeper than for females. Before reaching approximately the age of 53 years, the continuous oral corticosteroid treatment in males was shorter in duration compared to females. However, the trend was inverse afterwards. The final model equation was as follow:

$$\hat{y} = 1.59 + 1.85 (a) + 0.04 (b) - 0.03 (a \times b)$$

Where

y : log duration of continuous oral corticosteroid use

a : patient's gender (1 if female and 0 if male)

b : patient's age, in years

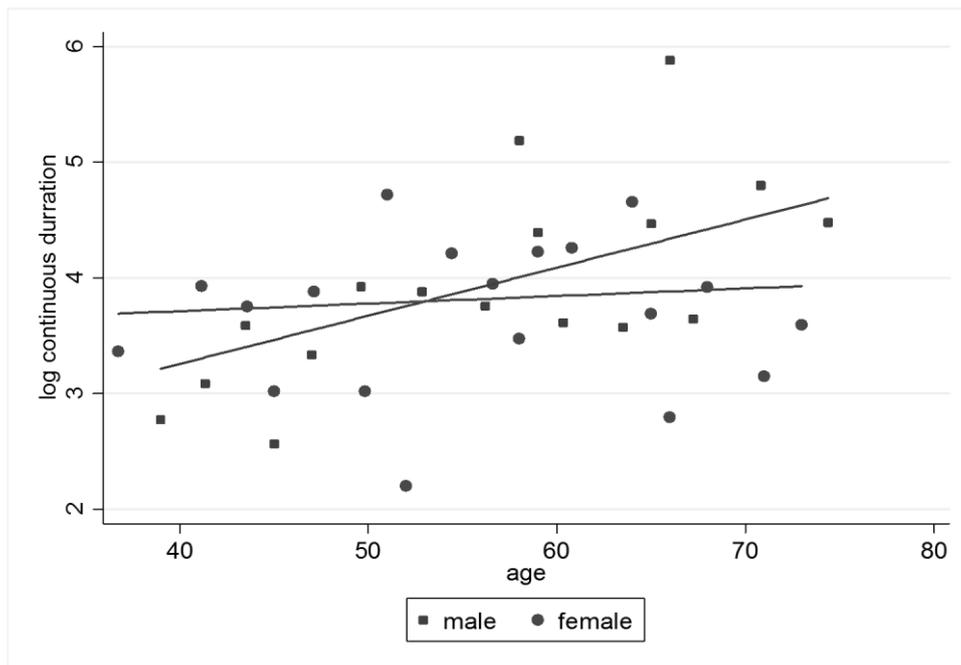


Figure 2 Interaction between age and gender

The minimum and maximum age were 32 and 79 years, respectively. Only 142 observations were involved into the linear regression modelling. The remainder 18 observations were excluded as DFbeta analysis results showed them as influential cases.

Although this study presented statistically significant model ($p=0.015$), the equation seemed inapplicable because only three explanatory variables were included in the multivariable analyses. As supported by the adjusted R^2 of 5.32%, only small variations in the duration of continuous use of oral corticosteroid were explained by age, gender, and interaction of both. Of course, above all, patient's conditions, doctor's diagnosis and prescribing habit, may contribute more to the equation. Such factors were not recorded in our data source and became the limitation of the present study. The other limitation was that the first prescription was not the real "first prescription" the patient ever received as the data were not taken comprehensively. Despite those limitations, this study to authors' knowledge was one of pioneers of research employing electronic health claim database in the country.

IV. CONCLUSION

In conclusion, concern to long-term oral corticosteroids use in Jember should be focused more on older male patients undergoing ambulatory care than female patients.

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Education for self-recognition of adverse effects of corticosteroids should be considered in the routine ambulatory pharmacy service in the near future.

V. ACKNOWLEDGEMENT

The researchers would like to thank Faculty of Pharmacy, The University of Jember for the grant presented for this study.

REFERENCE

- Bouvard, B., Legrand, E., Audran, M., & Chappard, D. 2010. Glucocorticoid-induced Osteoporosis: a Review. *Clinic Rev Bone Miner Metab*, 8: 15–26
- Coutinho, A. E., & Chapman, K. E. 2011. The Anti-Inflammatory and Immunosuppressive Effects of Glucocorticoids, Recent Developments and Mechanistic Insights. *Mol Cell Endocrinol*, 335(1): 2–13
- Farooqi, A. Z., Nasir-ud-Din, Aman, R., Qamar, T., & Aziz, S. 1997. Corticosteroid Use and Abuse by Medical Practitioners for Arthritis and Related Disorders In Pakistan. *Br J Rheumatol*, 36(1): 91–4
- Hunter, J. A., & Blyth, T. H. 1999. A Risk-Benefit Assessment of Intra-Articular Corticosteroids in Rheumatic Disorders. *Drug Saf*, 21(5): 353–365
- Jick, S. S., Lieberman, E. S., Rahman, M. U., & Choi, H. K. 2006. Glucocorticoid Use, Other Associated Factors, and The Risk of Tuberculosis. *Arthritis Rheum*, 55(1): 19–26
- Kamau, E., & Oyoo, G. 2013. Steroid Abuse; Two Wrongs Don't Make A Right: A Case Report. *Afr J Rheumatol*, 1(2): 28–30
- Kanis, J. A., Johansson, H., Oden, A., Johnell, O., Laet, C. De, Iii, L. J. M., ... Mellstrom, D. 2004. A Meta-Analysis of Prior Corticosteroid Use and Fracture Risk. *J Bone Miner Res*, 19(6): 893–899
- Lee, C.-H., Lee, M.-C., Shu, C.-C., Lim, C.-S., Wang, J.-Y., Lee, L.-N., & Chao, K.-M. 2013. Risk Factors for Pulmonary Tuberculosis in Patients with Chronic Obstructive Airway Disease in Taiwan: A Nationwide Cohort Study. *BMC Infect Dis*, 13(1): 194
- Mansour, A., Odaa, A., & Wanoose, H. 2010. Corticosteroid Nonprescription Use: A Cross-Sectional Hospital-Based Study in Basrah. *Med Princ Pract*, 19: 182–187
- Marques, A. H., Silverman, M. N., & Sternberg, E. M. 2009. Glucocorticoid Dysregulations and Their Clinical Correlates. *Ann N Y Acad Sci*, 1179: 1–18
- Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Ministry of Health of Republic of Indonesia. 2014. [Indonesia Health Profile 2013].

van Staa, T. P., Leufkens, H. G. M., Abenhaim, L., Begaud, B., Zhang, B., & Cooper, C. 2000. Use of Oral Corticosteroids in the United Kingdom. *Q J Med*, 93: 105–111

van Staa, T. P., Leufkens, H. G. M., Abenhaim, L., Zhang, B., & Cooper, C. 2000). Use of Oral Corticosteroids and Risk of Fractures. *J Bone Miner Res*, 15(6): 993–1000.

STUDI INTERAKSI SENYAWA ALKALOID *Piper longum* (L.) DENGAN PLASMEPSIN II DALAM SKRINING OBAT ANTIMALARIA

Dwi Koko Pratoko
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Email: dwikoko.farmasi@unej.ac.id

Abstrak

Piperin, senyawa yang terkandung dalam *Piper longum* (L.) memiliki aktivitas antimalarial dengan mekanisme deregulasi *Ubiquitin Proteasome System*. 2BJU, suatu enzim Plasmepsin II dengan ligan IH4 memiliki aktivitas antimalaria dengan IC₅₀ 34nM. IH4 merupakan inhibitor Plasmepsin II yang memiliki cincin piperidin pada strukturnya yang juga dimiliki senyawa piperin dan beberapa senyawa alkaloid pada *Piper longum* (L.). Penelitian ini melakukan skrining agen antimalaria dengan melakukan penambatan molekul senyawa alkaloid yang terkandung dalam *Piper longum* (L.) terhadap enzim plasmepsin II serta melakukan studi interaksi antara ligan asli serta senyawa alkaloid dengan enzim plasmepsin II. Berdasarkan penelitian ini, didapatkan senyawa *piperundecalidine* memiliki energi paling rendah diantara senyawa alkaloid yang lain, namun tidak lebih rendah dibandingkan ligan asli dari Plasmepsin II (2BJU). Hal ini terjadi karena pada *piperundecalidine* hanya berinteraksi dengan asam amino pada 1 dari 6 binding pocket yang berperan penting dalam aktivitas antimalaria. Ligan asli Plasmepsin II, IH4, berinteraksi dengan asam amino penting pada 4 dari 6 *binding pocket*, yang menyumbangkan kestabilan ikatan lebih besar dibandingkan pada *piperundecalidine*.

Kata Kunci: Plasmepsin II, *Piper longum* (L.), Senyawa Alkaloid, antimalaria, penambatan molekul

I. PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit parasit mematikan yang disebabkan oleh parasit protozoa dari genus *Plasmodium* dengan nyamuk sebagai vektornya. Penyakit malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Plasmodium* dengan nyamuk sebagai vektornya. Penyakit ini masih menjadi endemi di beberapa bagian dunia terutama di negara-negara berkembang. Berdasarkan data dari *WHO Malaria Report 2012*, pada tahun 2010, diperkirakan terjadi 219 juta kasus malaria di seluruh dunia dengan angka kematian sebanyak 660 ribu jiwa, setara dengan 2000 kematian tiap hari. Kasus malaria ini mayoritas terjadi pada anak dibawah usia 15 tahun (65%). Di Indonesia, kasus malaria pada tahun 2011 tergolong masih tinggi yaitu berkisar 700 tiap 100.000 penduduk, dengan kasus kematian antara 440-450 tiap 100.000 penduduk (WHO, 2013).

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

P. falciparum merupakan spesies patogen yang paling mematikan (White, 2004). Siklus hidup *P. falciparum* terdiri dari tiga tahap, yaitu pada nyamuk, hati (pre-eritrositik) dan darah (eritrositik). Tahap yang berlangsung dalam tubuh manusia adalah pada tahap hati dan darah. Pada umumnya gejala malaria muncul pada saat parasit berkembang (merozoit) dilepaskan dari hati menuju aliran darah dan menyerang sel darah merah. Di dalam sel darah merah, parasit mendegradasi hemoglobin manusia di vakuola makanan untuk menghasilkan asam amino yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan *P. falciparum* (Khan dan Waters, 2004). Pada eukariot, *Aspartic protease* dari *P. falciparum*, terlibat pada proses degradasi hemoglobin menjadi fragmen besar yang nantinya akan didegradasi lebih lanjut menjadi asam amino. Dikarenakan peran plasmepsin di atas, maka saat ini enzim tersebut menjadi target obat yang potensial dalam penemuan obat baru antimalaria (Banerjee dkk., 2002; Coombs dkk., 2001). Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah diidentifikasi 10 jenis plasmepsin, dimana plasmepsin II merupakan isoform enzim plasmepsin terbaik yang telah diteliti (Ersmark dkk., 2006).

Berdasarkan data Bank Data Protein RCSB (www.rcsb.org), saat ini terdapat 18 struktur co-kristal X-ray dari plasmepsin II dimana 9 diantaranya merupakan struktur co-kristal yang terkompleks dengan inhibitor turunan pepstatin (1M43, 1ME6, 1SME, 1XDH, 1XE5, 1XE6, 1W6H, 1WDI, dan 2R9B), 2 struktur merupakan struktur co-kristal tanpa inhibitor (1LF4 dan 1MIQ), serta 7 struktur dengan inhibitor non pepstatin (1LEE, 1LF3, 1LF4, 2BJU, 2IGX, 2IGY dan 4CKU). 2BJU merupakan struktur plasmepsin yang terkompleks dengan inhibitor aktif yang memiliki *scaffold* cincin piperidin ($IC_{50} = 34$ nM).

Piper longum (L.) memiliki banyak aktivitas farmakologi antara lain efek kardiovaskuler, antiamuba (*Entamoeba histolytica*), antimikroba (beberapa bakteri patogen seperti *S. Tiphy*, *E. Coli*, *P. Aeroginosa*), antijamur, antiulser, antidiabetes, analgesik, antiinflamasi, antioksidan, imunomodulator, antikanker, efek terhadap saluran pernapasan, antiasma serta preventif terhadap hati (Amit Khandhar, 2010; Mun'im dan Hanani, 2011). *Piper longum* (L.) memiliki banyak kandungan senyawa fitokimia golongan alkaloid, antara lain piperine, piperidine, dan banyak senyawa lainnya. Diantara senyawa yang terdapat pada tanaman ini, banyak diantaranya merupakan senyawa alkaloid yang memiliki cincin piperidin di dalamnya. Berdasarkan *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

penelitian sebelumnya, piperine memiliki aktivitas antimalarial dengan mekanisme deregulasi *Ubiquitin Proteasome System* (UPS) (Kundu dkk., 2015; Neto dkk., 2013).

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat dilakukan skrining senyawa alkaloid yang terkandung dalam *Piper longum* (L.) yang memiliki cincin piperidin dalam strukturnya dengan melakukan prediksi afinitas melalui penambatan molekul terhadap 2BJU serta studi perbandingan interaksi antara ligan asli dan senyawa yang memiliki prediksi afinitas paling tinggi. Senyawa alkaloid *Piper longum* yang memiliki afinitas lebih tinggi dibandingkan senyawa aktif, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut guna pengembangan agen antimalaria.

II. METODE PENELITIAN

A. Persiapan *Molecular Modelling*

Dalam melakukan penambatan molekul menggunakan laptop ASUS S400CA yang dioperasikan menggunakan windows 8.1, intel core i5-3317U, 64bit, DDR3 1600 MHz SDRAM 4 GB. Software yang diinstall adalah *ChemBioDraw Ultra* 13.0 free trial (www.cambridgesoft.com) untuk menggambar struktur ligan dalam 2D dan 3D serta untuk meminimalkan energi ligan. *Molegro Virtual Docker* 6.0 digunakan dalam melakukan proses penambatan molekul serta analisis interaksi antara ligan dengan enzim.

Struktur enzim 3D yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim plasmepsin II yang merupakan *aspartic protease* (PDB ID : 2BJU, resolusi 1,56 Å). Enzim tersebut diunduh dari bank data protein (PDB) (www.rcsb.org).

B. Preparasi Makromolekul

Enzim plasmepsin II diunduh dari Bank data protein (www.rcsb.org) melalui *software Molegro Virtual Docker*. Semua molekul air dihilangkan dan hanya memasukkan protein dan ligan saja. Enzim dipisahkan dari ligan aslinya dan siap untuk dilakukan proses penambatan molekul

C. Preparasi Ligan

Ligan asli serta senyawa alkaloid yang terkandung dalam *Piper longum* terpilih yang akan dilakukan penambatan molekul digambar secara 2D dan diminimalkan energinya menggunakan metode MM2 pada *ChemBioDraw Ultra* 13.0 dan disimpan dalam ekstensi file .mol2. Metode yang digunakan dalam meminimalkan energi yaitu *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

metode *force field molecular mechanism* MM2. Penyaringan bentuk ligan yang paling stabil dikombinasikan dengan MM2 dalam pencarian konformasi ditujukan untuk menghasilkan pose ligan yang stabil dengan sisi aktif dari protein.

D. Penambatan Molekul (ligan) terhadap enzim plasmepsin II

Ligan asli dan senyawa alkaloid yang telah dipreparasi dilakukan penambatan molekul pada sisi aktif Plasmepsin II. Algoritma *Molegro virtual Docker* dalam mendeteksi tempat ikatan protein yang berpotensi sebagai sisi aktif untuk berikatan dengan ligan (obat) dengan memanfaatkan rongga (*cavity*) yang dicari. Parameter yang digunakan pada proses *docking* antara lain

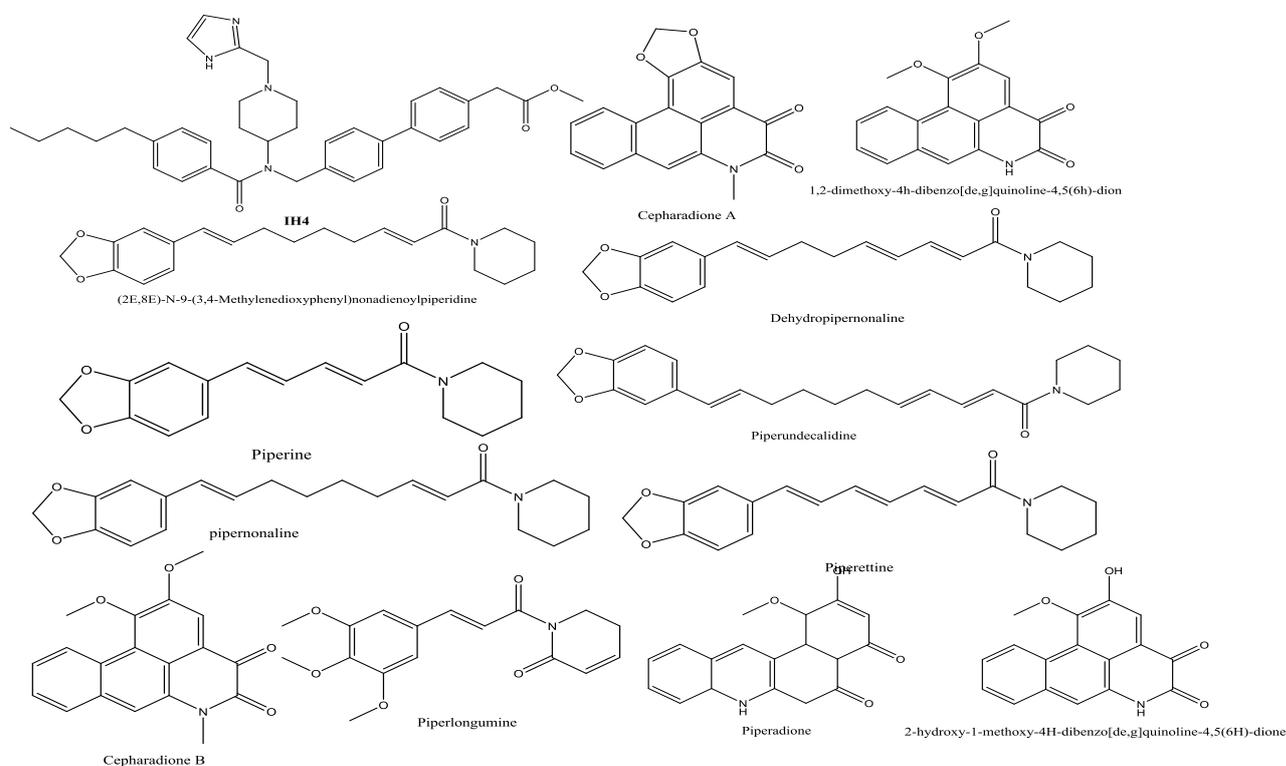
- *Score* : *MolDock Score*
- *Grid resolution* : 0,30 Å
- *Number of run algorithm* : 10
- *Max iterations* : 1500
- *Max population size* : 50
- *Energy treshold pose generation* : 100

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

IH4 merupakan ligan asli dari struktur co-kristal 2BJU yang merupakan enzim dari plasmepsin II. IH4 diekstraksi dan dilakukan penambatan ulang (*redocking*) ligan asli pada *binding site*-nya. Penambatan ulang ligan asli bertujuan untuk menentukan nilai *Root Mean Squared Deviation* (RMSD). Ligan asli dari 2BJU diekstraksi dan dimasukkan *binding site*-nya untuk menentukan kemampuan ligan dalam mereproduksi orientasi dan posisi inhibitor yang diamati pada struktur kristal di dalam *cavity*. Hasil dari penambatan ulang IH4 terhadap 2BJU mendapatkan 2 data yaitu *MolDockScore* dan RMSD. *MoldockScore* menunjukkan energi yang terlibat selama proses penambatan molekul, sedangkan RMSD merupakan deviasi antara molekul ligan dan ligan referensi. Pada penelitian ini mendapatkan nilai RMSD 1,34 Å, dimana memiliki nilai kurang dari 2 Å, nilai ini digunakan dalam mengevaluasi keberhasilan algoritma penambatan molekul (*docking*), dimana metode dikatakan valid bila RMSD dari proses penambatan molekul dengan ligan asli menghasilkan nilai <2,00 Å (Saptarini dkk., 2013). Berdasarkan hal tersebut, maka metode penambatan molekul dengan

menggunakan enzim 2BJU dapat dilakukan untuk melakukan penambatan senyawa alkaloid *Piper longum* (L.).

Pada penelitian ini dipilih 12 senyawa alkaloid yang ditemukan pada *Piper longum* yang memiliki cincin piperidin didalam strukturnya (Gambar 1). 12 senyawa ini dilakukan penambatan molekul pada 2BJU pada *cavity* dengan volume 325,15. Senyawa-senyawa tersebut digambar secara 2D dan 3D kemudian diminimalkan energinya menggunakan MM2 serta disimpan dalam bentuk *file Sybil2* (.mol2) dan dilanjutkan prosedur penambatan molekul sama seperti melakukan penambatan molekul pada ligan asli, hanya saja pada penambatan molekul senyawa alkaloid *Piper longum* (L.) tidak dilakukan penilaian RMSD. Hasil penambatan molekul dapat dilihat pada Tabel 1.



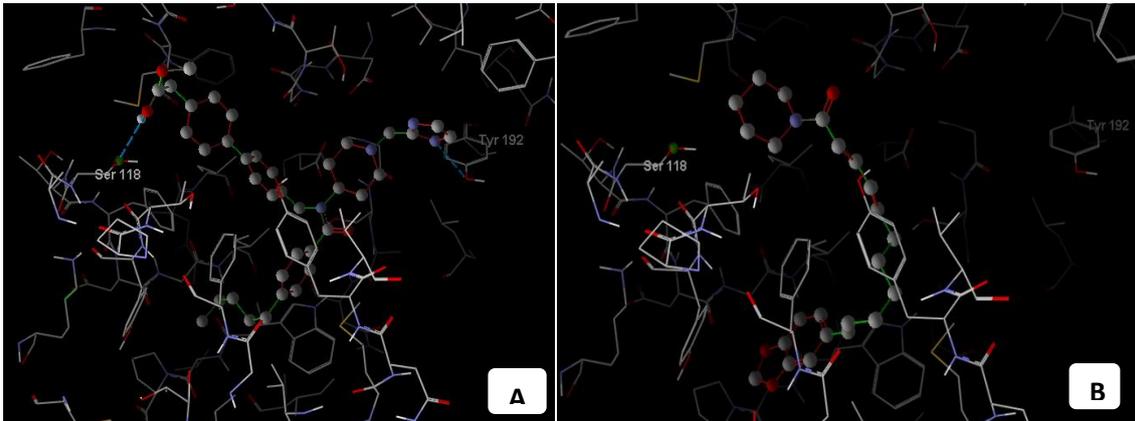
Gambar 1. Struktur senyawa IH4 dan senyawa alkaloid *Piper longum* (L.)

Tabel 1. Hasil penambatan molekul senyawa alkaloid Piper longum (L.) dengan sisiI aktifenzim Plasmepsin II

No	Nama Senyawa	MoldockScore	Torsi	HBond
1	IH4 (ligan asli)	-170,836	14	-0,526
2	<i>Piperundecalidine</i>	-143,543	8	0
3	<i>Dehydropipernonaline</i>	-143,269	6	-4,589
4	<i>Pipernonaline</i>	-138,786	7	-2,108
5	(2E,8E)-N-9-(3,4-Methylenedioxyphenyl)nonadienoylpiperidine	-136,159	7	-3,867
6	<i>Piperettine</i>	-130,110	4	0
7	<i>Piperine</i>	-121,658	3	0
8	<i>Piperlongumine</i>	-108,413	6	-2,715
9	<i>Piperadione</i>	-95,694	1	-2,790
10	<i>Cepharadione A</i>	-85,142	0	0
11	2-hydroxy-1-methoxy-4H-dibenzo[de,g]quinoline-4,5(6H)-dione	-77,403	1	-0,235
12	1,2-dimethoxy-4h-dibenzo[de,g]quinoline-4,5(6h)-dion	-71,938	2	0
13	<i>Cepharadione B</i>	-62,614	2	-0,756

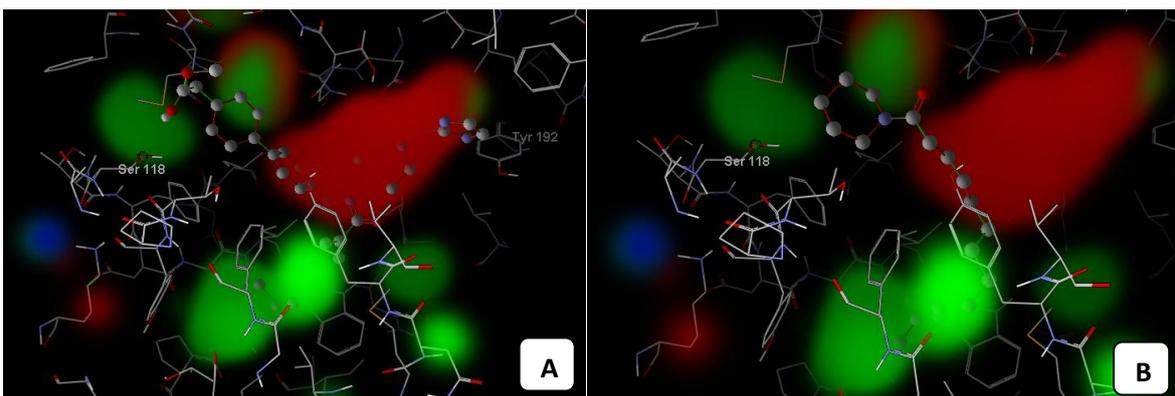
Bedasarkan data analisis hasil penambatan molekul terhadap senyawa alkaloid *Piper longum* (L.) pada 2BJU, ligan asli (IH4) memiliki nilai *MolDockScore* yang paling rendah, diikuti senyawa alkaloid *piperundecalidine*. Energi yang terlibat dalam proses penambatan molekul ini terkait afinitas ikatan ligan terhadap reseptor. Bila dibandingkan dengan IH4 yang sudah diketahui nilai IC_{50} nya, dapat diketahui bahwa energi dari semua senyawa alkaloid *Piper longum* yang diujikan memiliki energi yang lebih tinggi, hal ini menunjukkan senyawa–senyawa alkaloid tersebut memiliki afinitas yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan asli IH4.

Berdasarkan interaksi ikatan hidrogen antara ligan asli (IH4) dengan 2BJU (Gambar 2), dapat diketahui bahwa ligan asli berikatan hidrogen dengan dua residu asam amino dari enzim plasmepsin II, yaitu dengan residu Ser118 (energi *HBond* -2,44, panjang ikatan 3,11 Å) dan Tyr192 (energi *HBond* -2,39, panjang ikatan 3,12 Å). Pada senyawa *piperundecalidine* tidak terjadi interaksi ikatan hidrogen dengan residu asam amino. Hal diatas menyebabkan interaksi antara IH4 lebih stabil dibandingkan dengan *piperundecalidine*.



Gambar 2. Interaksi ikatan hidrogen 2BJU dengan (a) ligan asli (IH4) dan (b) senyawa alkaloid *piperundecalidine*

Gambar 3 menunjukkan peta kesesuaian energi antara residu dengan ligan. Warna hijau menunjukkan bagian dari residu dimana interaksi sterik pada daerah tersebut lebih disukai, warna merah menunjukkan bagian dari residu dimana interaksi elektrostatik lebih disukai pada bagian tersebut. Bila dilihat pada peta energi, senyawa IH4 bersesuaian dengan daerah residu dimana interaksi sterik dan elektrostatik lebih disukai, sedangkan senyawa piperundecalidine hanya bersesuaian dengan daerah residu dimana interaksi sterik lebih disukai. Kesesuaian ini menyumbang kestabilan afinitas antara ligan IH4 dengan enzim.

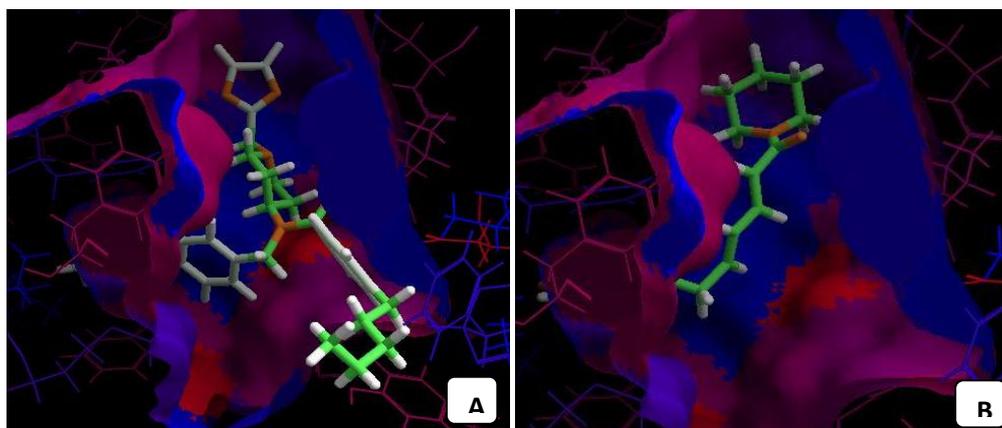


Gambar 3. Tampilan peta energi residu enzim dengan (a) IH4 dan (b) *Piperundecalidine*

Gambar 4 menunjukkan permukaan residu asam amino enzim terkait hidrofobisitas. Pada residu asam amino, warna merah menunjukkan residu bersifat hidrofil, sedangkan

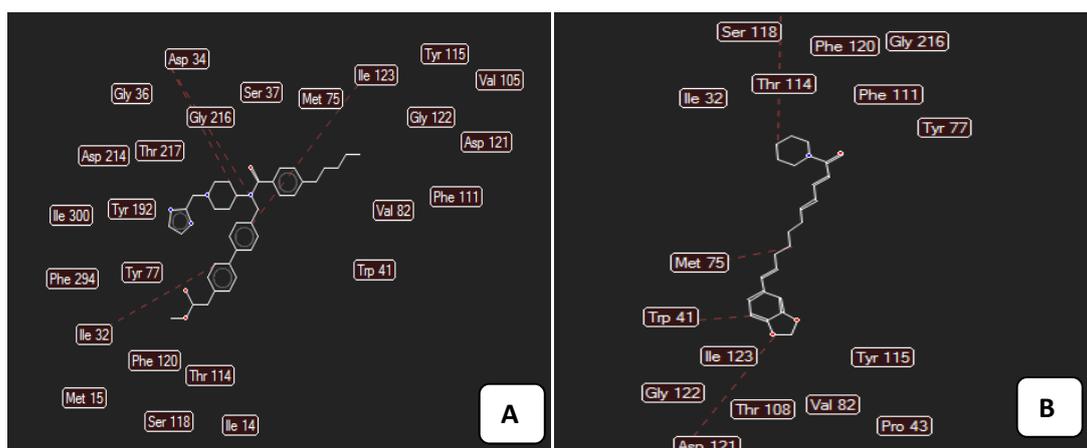
*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

residu yang bersifat hidrofob ditandai dengan warna biru. Pada ligan yang berinteraksi di dalamnya, warna putih menunjukkan sifat atom yang netral, warna hijau menunjukkan sifat atom yang hidrofob, sedangkan warna jingga menunjukkan sifat atom yang hidrofil. Bila dilihat pada Gambar 4, senyawa IH4, rantai alkil pada IH4 bersesuaian dengan residu yang bersifat hidrofob, substituen yang mengandung ester juga bersesuaian dengan residu asam amino, substituen yang mengandung cincin piperidin bersesuaian dengan residu yang bersifat hidrofob pada cincin piperidinnya dan residu hidrofil pada cincin imidazol. Pada senyawa *piperundecalidine*, rantai alkil bersesuaian dengan residu hidrofob, sedangkan cincin piperidin sebagian besar berada pada residu hidrofob, substituen *dioxolane* berada pada daerah yang sebagian besar residu sam aminonya bersifat hidrofob. Cincin piperidin dan *dioxolane* bila dilihat kepolarannya maka cenderung kurang sesuai dengan residunya, dikarenakan kedua substituen tersebut cenderung polar, sedangkan residu asam aminonya lebih non polar. Berdasarkan uraian diatas, kesesuaian sifat hidrofobisitas antara ligan dan reseptor menyumbangkan kestabilan ikatan antara ligan dan enzim plasmepsin II.



Gambar 4. Tampilan permukaan (*surfaces*) residu berdasarkan interaksi hidrofobik dengan ligan (a) IH4 dan (b) *piperundecalidine*

Berdasarkan Gambar 5, dapat dianalisis interaksi sterik antara residu dengan ligan. Interaksi sterik disini terkait dengan ikatan Van der Waals. Berdasarkan interaksi sterik, senyawa IH4 memiliki interaksi sterik lebih kuat dengan residu-residu asam amino Ile32, Asp34 dan Ile123, sedangkan *piperundecalidine* memiliki interaksi sterik dengan residu Asp121, Trp41, Ser118, dan Met75.



Gambar 5. Interaksi sterik residu dengan ligan (a) IH4 dan (b) *piperundecalidine*

Berdasarkan struktur kristal Plasmepsin II, Brinkworth dkk. (2001) melakukan eksperimen mengenai asam amino penting yang berpengaruh dalam aktivitas antimalaria dalam *binding pocket*. *Binding pocket* dibagi menjadi beberapa daerah yang penting dalam interaksi dengan agen antimalaria. Berdasarkan asam amino tersebut bila dikaitkan dengan senyawa uji pada penelitian ini, maka dapat dilakukan analisis pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis Interaksi residu asam amino dengan ligan

Pocket	Asam amino	IH4	Piperundecalidine
Asp dyad	Asp214, Asp34	Asp34 (VdW)	-
Flap pocket	Pro43, Trp41, Met75, Val82, Val105, Thr108, Phe111, Ile123	Ile123 (VdW)	Trp41 (VdW), Met75
S1/S3	Ile14, Met15, Phe16, Tyr17, Ile32, Phe111, Thr114, Phe120, Ile123, Ser215, Gly216, Thr217, Ser218	Ile123 (VdW) Ile32 (VdW)	-
S2	Ala219, Pro243, Phe244, Leu271, Tyr273, Met286, Asn288, Ile289, Ile290	-	-
S1'	Tyr192, Trp193, Ile212, Phe294, Ile300	Tyr192 (Hbond)	-
S2'	Ala38, Asn39, Leu131, Ser132, Ile133	-	-

Berdasarkan hasil penambatan molekul, analisis interaksi ikatan hidrogen, hidrofobisitas, elektrostatik dan sterik, maka senyawa alkaloid yang diujikan pada penelitian ini memiliki afinitas lebih rendah dibandingkan ligan asli. Hal tersebut diperkuat dengan analisis intraksi dengan asam amino, dimana substituen yang menempati *binding pocket* yang berperan penting dalam aktivitas antimalaria sangat minim (1 *binding pocket*) bila dibandingkan dengan ligan asli yang menempati 4 dari 6 *binding pocket*.

IV. KESIMPULAN

Tujuan utama penelitian ini adalah untuk menskrining senyawa alkaloid *Piper longum* (L.) yang dapat dikembangkan sebagai agen antimalarial baru, beserta menganalisis interaksi antara enzim dengan ligan dan senyawa uji, terkait mekanisme molekuler antimalaria. Berdasarkan hasil skrining, diantara senyawa alkaloid yang diujikan, belum ada satupun senyawa yang memiliki afinitas lebih baik dibandingkan ligan asli, hal ini dimungkinkan karena minimnya interaksi antara ligan alkaloid dengan binding pocket, dimana ligan hanya berinteraksi dengan asam amino penting pada *binding pocket* hanya pada 1 tempat. Hal ini berbeda pada ligan asli, dimana berinteraksi dengan asam amino penting pada empat *binding pocket*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amit Khandhar, S. P., 2010, Chemistry and Pharmacology of *Piper longum* L., International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 5: 67–76
- Banerjee, R., Liu, J., Beatty, W., Pelosof, L., Klemba, M., dan Goldberg, D. E., 2002, Four Plasmeprins are Active in the *Plasmodium falciparum* Food Vacuole, Including a Protease with an Active-site Histidine. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99: 990–995
- Brinkworth, R. I., Prociv, P., Loukas, A., dan Brindley, P. J., 2001, Hemoglobin-Degrading, Aspartic Proteases of Blood-Feeding Parasites: Substrate Specificity Revealed by Homology Models, The Journal of Biological Chemistry, 276: 38844-38851
- Coombs, G. H., Goldberg, D. E., Klemba, M., Berry, C., Kay, J., dan Mottram, J. C., 2001, Aspartic Proteases of *Plasmodium Falciparum* and Other Parasitic Protozoa as Drug Targets. Trends in Parasitology, 17: 532–537

- Ersmark, K., Samuelsson, B., dan Hallberg, A., 2006, Plasmeppsins as Potential Targets for New Antimalarial Therapy, *Medicinal Research Reviews*, 26: 626–666.
- Khan, S. M., dan Waters, A. P., 2004, Malaria Parasite Transmission Stages: an Update, *Trends in Parasitology*, 20: 575–580
- Kundu, C. N., Das, S., Nayak, A., Satapathy, S. R., Das, D., dan Siddharth, S., 2015, Anti-malarials are Anti-Cancers and Vice Versa-One Arrow Two Sparrows, *Acta Tropica*, 149: 113–127
- Mun'im, A. dan Hanani, E., 2011, *Fitoterapi Dasar*, Jakarta: Dian Rakyat
- Neto, Z., Machado, M., Lindeza, A., Rosá, D., Rio, V., lio, dkk., 2013, Treatment of *Plasmodium chabaudi* Parasites with Curcumin in Combination with Antimalarial Drugs: Drug Interactions and Implications on the Ubiquitin/Proteasome System, Treatment of *Plasmodium chabaudi* Parasites with Curcumin in Combination with Antimalarial Drugs: Drug Interactions and Implications on the Ubiquitin/Proteasome System, *Journal of Parasitology Research*, *Journal of Parasitology Research*, 2013: e429736
- Saptarini, N. M., Sitorus, E. Y., dan Levita, J., 2013, Structure-Based in Silico Study of 6-Gingerol, 6-Ghogaol, and 6-Paradol, Active Compounds of Ginger (*Zingiber officinale*) as COX-2 Inhibitors. *International Journal of Chemistry*, 5: 12
- White, N. J., 2004, Antimalarial Drug Resistance, *Journal of Clinical Investigation*, 113: 1084–1092
- WHO, 2013, *World Malaria Report 2012*, Geneva: World Health Organization

STUDI *MOLECULAR DOCKING* TURUNAN N-FENILBENZAMIDA TERHADAP RESEPTOR DIHIDROOROTAT DEHIDROGENASE DARI *Plasmodium falciparum*

Indah Purnama Sary
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: indahpurnamasary.farmasi@unej.ac.id

Abstrak

Malaria merupakan penyakit parasit terpenting di seluruh dunia. Penelitian untuk megembangkan obat terutama dengan target baru telah banyak dilakukan. Enzim dihidroorotat dehidrogenase (DHODH) pada *Plasmodium falciparum* merupakan salah satu target baru obat antimalaria yang sedang dikembangkan. Pada penelitian ini, dilakukan analisis *molecular docking* untuk mendapatkan gambaran interaksi turunan N-fenilbenzamida dengan DHODH. Semua senyawa menghasilkan kisaran energi *docking*-85.4654 s.d -105.425 dan energi ikatan hidrogen 0 s.d -9.27068. Energi *docking* terbaik dimiliki oleh senyawa **9**, **8**, **3**, dan **4**, sedangkan senyawa **4** memiliki juga interaksi hidrogen dan sterik yang paling bayak dan kuat. Dapat diprediksikan bahwa senyawa **4** merupakan senyawa yang dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitasnya sebagai antimalaria dibanding dengan senyawa yang lainnya.

Kata Kunci: N-fenilbenzamida, *molecular docking*, dihidroorotat dehidrogenase, antimalaria

I. PENDAHULUAN

Isu malaria masih menjadi topik yang tidak dapat dipandang sebelah mata. Penyakit ini menyebar di lebih dari 80 negara pada 6 kawasan WHO, menyebabkan 198 juta kasus dan setidaknya ada 584 ribu di antaranya merupakan kasus meninggal dunia (WHO, 2014). *Plasmodium falciparum* merupakan parasit utama penyebab penyakit ini. Parasit ini berpindah dari manusia satu ke yang lain melalui nyamuk anopheles betina. Di dalam tubuh manusia, parasit ini berkembang di dalam hati kemudian menyerang dan berkembang di dalam sel-sel darah merah, begitu seterusnya hingga darah inang dihisap oleh nyamuk anopheles betina dan disebarkan ke manusia lain dengan gigitannya (<http://www.mosquitobait.com/understanding.html>).

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Penanganan malaria terutama pengembangan obat selalu menarik untuk diteliti, termasuk target-target baru untuk obat malaria. Baldwin *et al* pada tahun 2002 telah meneliti tentang enzim dihidroorotat dehidrogenase (DHODH) pada *Plasmodium falciparum* sebagai kemungkinan target obat antimalaria. Sebelumnya, telah diketahui bahwa DHODH merupakan enzim yang terlibat dalam proses penting respirasi sel dalam mitokondria makhluk hidup. DHODH merupakan enzim yang terlibat dalam biosintesis pirimidin (Berg *et al.*, 2002) Beberapa penelitian telah dilakukan dalam rangka meneliti aktivitas dan efek inhibisi beberapa senyawa terhadap DHODH pada manusia (Davis *et al.*, 1996 dan Shih *et al.*, 2014). Baldwin *et al* melanjutkan penelitiannya, kemudian pada tahun 2005 merilis laporan bahwa mereka berhasil mendapatkan data IC₅₀ dari beberapa turunan *N*-fenilbenzamida terhadap *Plasmodium falciparum*. Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Deng *et al* telah menghasilkan struktur X-ray dari DHODH *Plasmodium falciparum* yang diikat oleh suatu turunan *N*-fenilbenzamida, DSM59, yang diklaim poten dan selektif terhadap enzim tersebut.

Turunan *N*-fenilbenzamida telah banyak disintesis dan diteliti berbagai aktivitasnya. Salah satu cara sintesis yang cukup mudah dan relatif murah dapat dilakukan dengan bahan awal 1,3-difeniltiourea dan benzoil klorida (Sary, 2015). Pada penelitian ini dilakukan tahap sebelum sintesis yaitu studi *in silico*. Dalam studi ini akan digambarkan interaksi dan afinitas antara beberapa turunan *N*-fenilbenzamida dengan DHODH melalui analisis *molecular docking*, sehingga dapat diprediksikan senyawa mana yang memberikan energi dan interaksi yang paling baik untuk dijadikan kandidat antimalaria.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

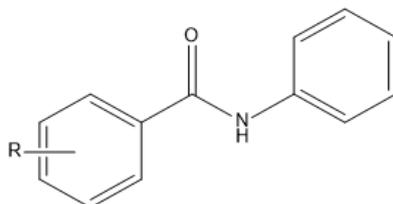
Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan komputer laptop Asus S300C dengan spesifikasi sebagai berikut: processor Intel(R) Core(TM) i5-3317U CPU @ 1.70GHz 1.70 GHz, RAM 4.00, system type 64-bit Operating System, x64 based processor. Penggambaran 2 dimensi struktur senyawa turunan *N*-fenilbenzamida dibuat menggunakan perangkat lunak ChemBioDraw 12.0, sedangkan 3 dimensi strukturnya dibuat menggunakan ChemBio3D 12.0. Reseptor 3DEL diunduh dari RSCB Protein Data Bank www.rcsb.org, dan studi *Molecular docking* dilakukan dengan perangkat lunak Molegro Virtual Docker (MVD) 5.0.0.

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

B. Metodologi

N-fenilbenzamida dan kedelapan turunannya (Tabel 1) digambar struktur 2 dimensinya menggunakan ChemBioDraw 12.0. Masing-masing gambar tersebut kemudian dipindahkan ke ChemBio3D untuk mempersiapkan struktur 3 dimensi dan diakhiri dengan meminimalkan energi dengan perhitungan MMF94 sehingga didapatkan struktur 3 dimensi yang paling stabil. Struktur 3 dimensi ini yang digunakan untuk analisis *docking* dengan reseptor DHODH menggunakan MVD 5.0.0. Sebelumnya, reseptor DHODH dari *Plasmodium falciparum* dengan kode 5DEL diunduh dari www.rscb.org. Analisis *docking* turunan *N*-fenilbenzamida diawali dengan mencari *cavity* atau sisi aktif pengikatan reseptor DHODH dengan ligan aslinya. Dari tujuh sisi aktif pengikatan, *cavity* 2 yang terpilih karena terdapat ligan asli di dalamnya. Selanjutnya, *N*-fenilbenzamida dan kedelapan turunannya dianalisis sehingga diperoleh masing-masing pose yang paling memungkinkan dari kompleks antara senyawa dengan reseptor. Pose tersebut dilengkapi dengan *rerank score* dan energi ikatan H.

Tabel 1. *N*-fenilbenzamida dan turunannya



Senyawa	Nama	R
1	<i>N</i> -fenilbenzamida	H
2	4-bromo- <i>N</i> -fenilbenzamida	4-Br
3	<i>N</i> -fenil-4-(trifluorometil)benzamida	4-CF ₃
4	4-nitro- <i>N</i> -fenilbenzamida	4-NO ₂
5	4-metoksi- <i>N</i> -fenilbenzamida	4-OCH ₃
6	2,4-dikloro- <i>N</i> -fenilbenzamida	2,4-diCl
7	<i>N</i> -fenil-3,5-bis(trifluorometil)benzamida	3,5-diCF ₃
8	4-(<i>tert</i> -butil)- <i>N</i> -fenilbenzamida	4- <i>t</i> -but
9	<i>N</i> -fenil-4-(tiofen-2-il)benzamida	4-tienil

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

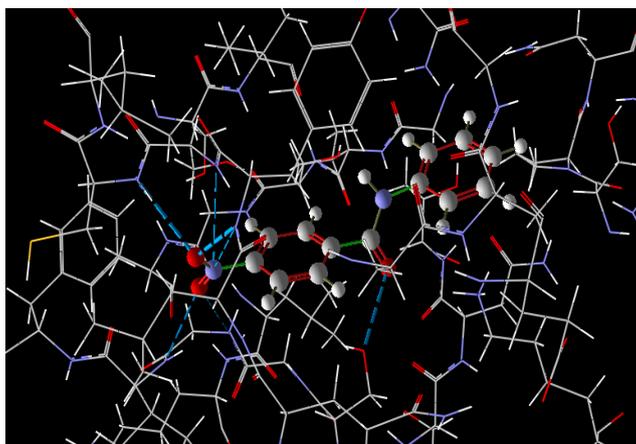
Hasil analisis *docking* dengan MVD 5.0.0 menunjukkan bahwa *rerank score* dari kedelapan turunan *N*-fenilbenzamida pada masing-masing pose yang paling memungkinkan lebih rendah daripada *N*-fenilbenzamida, seperti yang dapat dilihat pada

Tabel 2. Hal ini berarti, pengikatan kedelapan turunan *N*-fenilbenzamida terhadap reseptor DHODH lebih baik dibandingkan *N*-fenilbenzamida. Dari kedelapan turunan *N*-fenilbenzamida, senyawa **9**, **8**, **3**, dan **4** berturut-turut memiliki *rerank score* terendah. Namun jika dilihat dari energi ikatan H, senyawa **4** lah yang menjadi pusat perhatian karena memiliki energi ikatan H yang paling kuat terhadap reseptor DHODH.

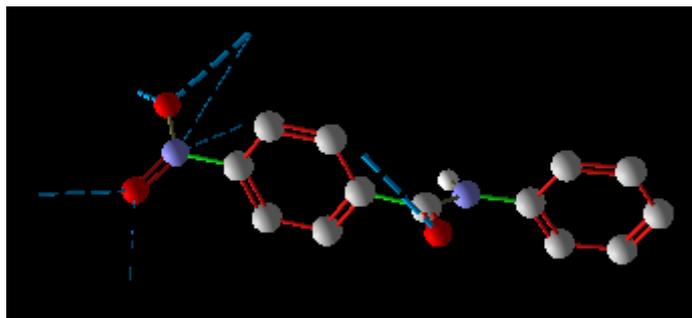
Tabel 2. Hasil perhitungan energi *molecular docking* turunan *N*-fenilbenzamida

Senyawa	<i>Rerank Score</i>	Energi Ikatan H
1	-85.4654	0
2	-86.8739	0
3	-97.3156	-1.65716
4	-97.2149	-9.27068
5	-95.4245	-2.59463
6	-90.8689	-0.537878
7	-102.199	0
8	-97.5276	-2.02929
9	-105.425	-0.534649

Dari hasil *docking*, ikatan H hanya dimiliki oleh beberapa senyawa. Energi ikatan H lemah dimiliki oleh senyawa **3**, **5**, **6**, **8**, dan **9**, sedangkan senyawa **4** memiliki energi ikatan H terkuat. Kompleks senyawa 4 dengan reseptor DHODH beserta ikatan H dapat dilihat pada Gambar 1. Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa substituen nitro pada posisi para sangat signifikan memberikan kontribusi pembentukan ikatan H pada kompleks antara senyawa **4** dengan reseptor DHODH. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa **4** merupakan kandidat yang memberikan afinitas dan interaksi terbaik dengan reseptor DHODH *Plasmodium falciparum*.

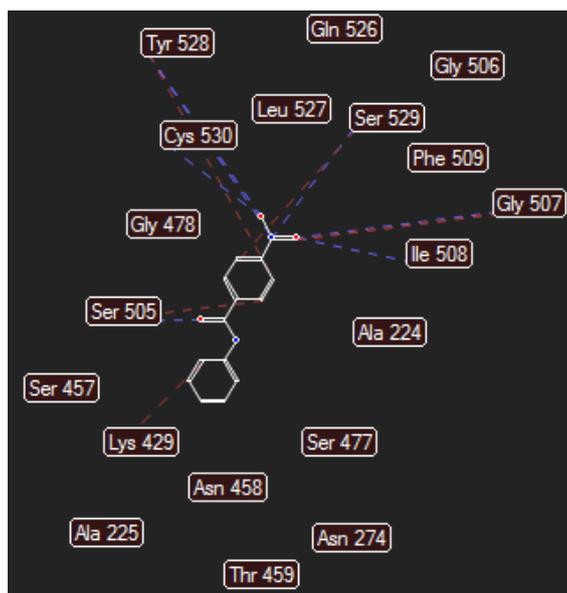


Gambar 1. Pose *docking* senyawa **4** dengan DHODH menggunakan MVD 5.0.0



Gambar 2. Ikatan H dari pose kompleks senyawa **4** dengan DHODH

Selain penggambaran ikatan H dari gambar 3 dimensi, MVD 5.0.0 juga menyediakan fitur *ligand map* untuk memprediksikan ikatan H dan interaksi sterik senyawa **4** terhadap DHODH dalam 2 dimensi. Seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3, senyawa **4** berikatan H dengan Ser 505, Gly 507, Ile 508, Ser 529, Cys 530, dan Tyr 528, seluruhnya dengan 1buah ikatan H kecuali dengan Tyr 528 sebanyak 2 buah ikatan H.



Gambar 3. Ikatan H dan interaksi sterik dari senyawa **4** dengan residu DHODH

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, yang pertama, senyawa *N*-fenil-4-(tiofen-2-il)benzamida (**9**), 4-(*tert*-butil)-*N*-fenilbenzamida (**8**), *N*-fenil-4-(trifluorometil)benzamida (**3**), 4-nitro-*N*-fenilbenzamida (**4**), mempunyai nilai energi terendah yaitu -105.425, -97.5276, -97.3156, -97.2149 . Kedua, senyawa 4-nitro-*N*-fenilbenzamida (**4**), mempunyai interaksi hidrogen dan sterik serta afinitas dengan

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

reseptor DHODH yang paling banyak dan kuat, sehingga dapat diprediksikan bahwa senyawa tersebut dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitasnya sebagai antimalaria dibanding dengan senyawa yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Baldwin, J., Michnoff, C. H., Malmquist, N. A., White, J., Roth, M. G., Rathod, P. K., Phillips, M. A., 2002, Malarial Dihydroorotate Dehydrogenase Substrate and Inhibitor Specificity, *J. Biol. Chem.*, 277(44): 41827–41834
- Baldwin, J., Michnoff, C. H., Malmquist, N. A., White, J., Roth, M. G., Rathod, P. K., Phillips, M. A., 2005, High-throughput Screening for Potent and Selective Inhibitors of *Plasmodium falciparum* Dihydroorotate Dehydrogenase, *J. Biol. Chem.*, 280(23): 21847–21853
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L., 2002, *Biochemistry* 5th Ed, New York: W. H. Freeman
- Davis, J. P., Cain, G. A., Pitts, W. J., Magolda, R. L., Copeland, R. A., 1996, *Biochemistry*, 35: 1270–1273
- Deng, X., Matthews, D., Rathod, P. K., Phillips, M. A., 2015, The X-ray Structure of *Plasmodium falciparum* Dihydroorotat Dehydrogenase Bound to A Potent and Selective *N*-phenylbenzamide Inhibitor Reveals Novel Binding-Site Interactions, *Acta Crystallogr., Sect.*, 71: 553-559
- Prakash, N, Patel, S., Faldu, N. J., Ranjan, R., Sudheer, D. V. N., 2010, Molecular Docking Studies of Antimalarial Drugs for Malaria, *J Comput Sci Syst Biol.*, 3(3): 070-073
- Sary, I. P., Siswandono, Budiati, T., 2015, *N*-phenylbenzamide Synthesis by Nucleophilic Substitution with 1,3-Diphenylthiourea, *Int J Pharm Sci.*, 7(3): 481-482
- Sharma, R. J., Chetia, D., 2013, Docking Studies On Quinine Analogs For Plasmeppsini-li Of Malaria Parasite Using Bioinformatics Tools, *Int J Pharm Pharm Sci.*, 5(3): 681-685
- Shih, K., Lee, C., Tsai, C., Lin, Y., Tang, C., 2014, Development of a Human Dihydroorotate Dehydrogenase (hDHODH) Pharma-Similarity Index Approach with Scaffold-Hopping Strategy for the Design of Novel Potential Inhibitors, *PLOS ONE*, 9(2): 1-11
- World Health Organization. 2014. World Malaria Report 2014. Dapat diakses dari www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en/

PENGARUH pH PADA SINTESIS IMINA TURUNAN 7-ACA (7- AMINOSEFALOSPORONAT ASAM) DENGAN VANILLIN (4-HIDROKSI-3- METOKSIBENZALDEHID) MELALUI REAKSI ADISI ELIMINASI

M. Kuswandi¹, Broto Santoso^{2*}, Rizki Apriyani²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A Yani Tromol Pos I,
Pabelan Kartasura

*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Modifikasi struktur merupakan teknik umum yang digunakan untuk memperoleh senyawa baru yang lebih poten. Banyak senyawa alam dan turunannya yang telah diteliti untuk mendapatkan aktivitas antibakteri yang lebih baik. Sintesis senyawa baru telah dilakukan melalui reaksi adisi-eliminasi antara 7-ACA dan vanilin. Pengaruh pH kondisi lingkungan pada reaksi dikerjakan pada pH 3, 5 dan 9. Larutan 7-ACA dan vanilin dalam DMSO dengan variasi pH dicampur dan diaduk pada suhu 50oC selama 24 jam. Hasil yang dievaluasi dan diuji menggunakan metode KLT, spektrometer IR, alat uji titik lebur dan metode sumuran aktivitas antibakteri. Produk dihasilkan optimal pada pH 5 dan menunjukkan zona hambat radikal terbesar untuk aktivitas antibakteri. Teknik lanjutan diperlukan untuk mendapatkan produk yang lebih murni.

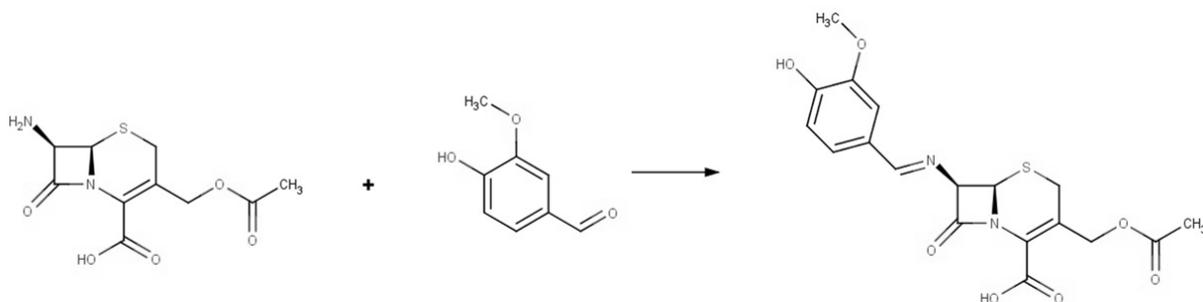
Kata Kunci: 7-ACA, vanilin, pH, reaksi adisi-eliminasi

I. PENDAHULUAN

Kelompok antibiotik sefalosporin merupakan antibiotik yang banyak diresepkan untuk semua kasus infeksi dirumah sakit (Dancer, 2001). Mereka melaporkan bahwa munculnya resistensi bakteri melalui *penicillin-binding proteins* (PBPs) (Livermore, 1987). Senyawa 7-ACA merupakan molekul inti sefalosporin yang berperan penting dalam aktivitas antibakteri (Gaurav *et al.*, 2012). Salah satu tanaman yang menunjukkan potensi aktivitas antimikroba yaitu vanillin yang telah banyak digunakan sebagai pengawet makanan alami (Sun *et al.*, 2013).

Sintesis obat merupakan modifikasi senyawa atau penggabungan beberapa molekul menjadi suatu molekul. Modifikasi senyawa ini dimaksudkan untuk meningkatkan efek farmakologi serta menurunkan reaksi alergi (Siddhart *et al.*, 2005). Reaksi yang
*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

digunakan dalam sintesis ini adalah reaksi adisi eliminasi yang dilakukan pada 2 tahap. Amina (7-ACA) bertindak sebagai nukleofil dalam reaksi adisi eliminasi dengan karbonil (vanilline) (Fessenden and Fessenden, 1982). Mekanisme reaksi antara 7-ACA dan vanillin dapat dilihat pada Gambar 1. Diharapkan, sintesis antara 7-ACA dengan suatu aldehid dalam hal ini vanillin dapat diketahui pH optimalnya sehingga didapatkan senyawa dengan zona hambat yang luas.



Gambar 1. Ajuan reaksi utama antara 7-ACA dan vanillin.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Beberapa bahan dan alat yang digunakan adalah test tube (Pyrex), Iwaki Ecan HPS-2002 magnetic stirrer, lampu UV 254 nm (sebagai detector KLT), Electrothermal IA9100 (melting point tester), spektrometer IR PRESTIGE-21 Shimadzu, 7-ACA (Sigma Aldrich), vanillin (Merck), DMSO (Merck), HCl 2N (Merck), NaOH 1N (Merck), asetonitril (Merck), n-heksan (Merck) dan *S. aureus* ATCC 259213 (Universitas Sebelas Maret).

B. Metodologi

Penelitian dilakukan berdasarkan metode Bosignore *et al.* (1998), dengan cara 7-ACA dan vanillin dilarutkan dengan DMSO. Sejumlah HCl 2N ditambahkan untuk mendapatkan pH 3 dan NaOH 1N untuk pH 9. Campuran diaduk pada suhu 50°C selama 24 jam. Diukur persentase rendemen, uji titik lebur, uji KLT dengan fase gerak asetonitril-heksana (7:3), deteksi struktur dengan spektra IR (KBr *pellet*) dan uji aktivitas anti bakteri dilakukan dengan metode sumuran menggunakan bakteri *S. aureus*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

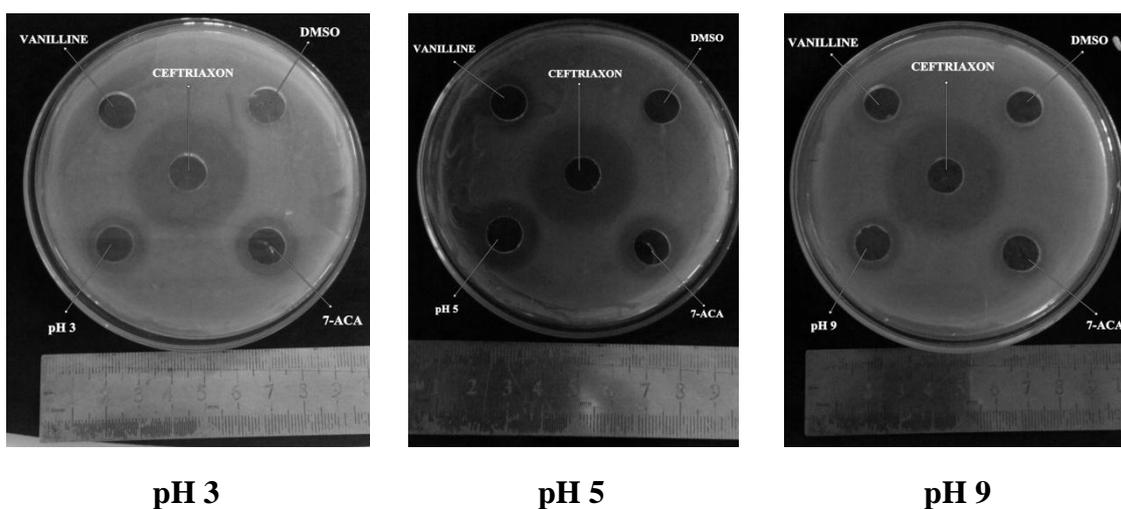
Hasil sintesis dan rendemen terlihat pada Gambar 2 dan Tabel 1. Perbedaan kondisi pH memberikan perbedaan warna rendemen. Warna dari produk hasil sintesis yaitu putih (pH 3), coklat (pH 5), dan kuning (pH 9). Persen rendemen dengan berbagai kondisi diasumsi kan reaksi berhasil dan berat molekul dari hasil sintesis yaitu 406,41 g/mol. Hasil sintesis pada pH 3 dan pH 9 menunjukkan rendemen lebih dari 100%, hal ini mungkin dikarenakan hasil sintesis belum dimurnikan. Pada percobaan ini tidak dilakukan pemurnian lanjutan hingga diperoleh senyawa murni.

Kromatogram dari produk berbagai perbedaan kondisi menunjukkan perbedaan *Rf* dibandingkan dengan *starting material*. Elusi produk hasil sintesis pada pH 3 dan pH 5 menunjukkan adanya komponen baru dengan spot tunggal, tetapi pada pH 9 memberikan *Rf* yang sama dengan 7-ACA. Namun, kromatogram pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) tidak memberikan elusi yang baik karena spot melebar. Pada percobaan belum menemukan fase gerak yang optimal.

Tabel 1. Produk sintesis pada 3 kondisi pH dilihat secara kimia dan aktivitas antibakteri

kondisi	warna	Rendemen (%)	melting point (°C)	<i>Rf</i>	zona hambat (mm)
pH 3	White	100,000*	178,6-210,0	0,825	7
pH 5	Brown	42,948	179,4-208,0	0,800	13
pH 9	Yellow	100,000*	181,9-214,3	0,750	5,5

**crude*



Gambar 2. Hasil uji antibakteri dengan *Staphylococcus aureus* pada variasi pH.

Nilai uji titik lebur suatu produk pada suhu yang berbeda memiliki nilai spesifik dari *starting material* (Tabel 1), menurut teori, titik lebur vanillin dan 7-ACA adalah 81-83°C dan 300°C. Dari ketiga kondisi, dengan suhu awal yang sama didapatkan rentang terkecil yaitu pH 5. Pada kondisi tersebut produk hasil sintesis juga memberikan zona hambat terbesar. Zona hambat produk ini lebih kecil dari ceftriaxon, namun masih lebih besar dari *starting material* yang digunakan.

Data spektrum IR pada berbagai pH menunjukkan bahwa tidak terlihat puncak amina primer. Dengan demikian, dimungkinkan reaksi telah berhasil dan senyawa target telah terbentuk. Spektra IR produk memberikan bilangan gelombang (cm^{-1}) puncak sebagai berikut: 3600-3400 (-OH), 3116.97 (-N-H), 2924.09 (-C-H), 2800.64 (R-CO-OH), 2684.91 (-S-H), 2623,19 (-C-H), 2522.89 (-C-H), 2476.60 (-C-H), 2368.59 (R-CO-O-R), 1805.37 (C=O), 1735.93 (R-CO-O-R), 1627.92 (R-CO-N), 1512.19 (-C=N-), 1381.03 (-C-N-), 1334.74 (-C-N-C-), 1234.44 (-C-O-C); 1126.43 (H-C-O-) and 1026.13 (H-C-O-).

IV. KESIMPULAN

Hasil penelitian memberikan suatu senyawa baru yaitu, 3-[(asetiloksi)metil]-7-[(E)-[(4-hidroksi-3-metoksifenil)metilidene]amino]-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat. Kondisi optimal dari reaksi yang memberikan aktivitas antibakteri tertinggi yaitu produk pada pH 5.

DAFTAR PUSTAKA

- Basoglu, S., Demirbas, A., Ulker, S., Alpay-Karaoglu, S. and Demirbas, N., 2013, Design, Synthesis and Biological Activities of Some 7-Amino Cephalosporanic Acid Derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*
- Bonsignore, L., Cottiglia, F., Elkhaili, H., Jehl, F., Lavagna, S. M., Loy, G., Manna, F., Monteil, H., Pompei, D. and Secci, D., 1998, Synthesis and Antimicrobial Activity of Coumarin 7-Substituted Cephalosporins and Sulfones, *Il Farmaco*, 53 (6): 425-450
- Dancer, S. J., 2001, The Problem with Cephalosporins, *J. Antimicrob. Chemother.*, 48 (4): 463-478
- Fessenden, R. J. and Fessenden, J. S., 1982, *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 2*, Jakarta: Erlangga

- Gaurav, K., Karmakar, S., Kundu, K. and Kundu, S., 2012, Design, Development and Synthesis of Novel Cephalosporin Group of Antibiotics, Antibiotic Resistant Bacteria - A Continuous Challenge in the New Millennium, Dr. Marina Pana (Ed.), ISBN: 978-953-51-0472-8, InTech
- Levermore, D. M., 1987, Mechanisms of Resistance to Cephalosporin Antibiotics, *Drugs*, 34(2): 64-88
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., dan Vyvyan, J. A., 2008, Introduction to Spectroscopy, 4th Edition, Brooks Cole
- Sun, J., Yin, Y., Sheng, G., Yang, Z. and Zhu, H., 2013, Synthesis, Molecular Modeling and Structural Characterization of Vanillin Derivates as Antimicrobial Agents, *Journal of Molecular Structure*, 1039: 214-218

SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA PRODUK IMINA MELALUI REAKSI 7-ACA DAN VANILIN DENGAN VARIASI PELARUT

M. Kuswandi¹, Broto Santoso^{2*}, Anik Rahmawati²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A Yani Tromol Pos I,
Pabelan Kartasura

*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Dewasa ini, kasus resistensi antibiotik menjadi masalah klinik yang serius di se seluruh penjuru dunia. Hal ini dikarenakan penyalahgunaan antibiotik pada bidang pertanian, peternakan, perikanan dan terapi yang irrasional di unit-unit pelayanan kesehatan. Selain itu, penelitian mengenai antibiotik baru tidak menunjukkan peningkatan yang berarti. Percobaan dilakukan dengan mensintesis senyawa imina dari 7-ACA dan vanilin dengan berbagai pelarut untuk mendapatkan rendemen terbanyak. Pelarut yang digunakan adalah DMSO, etanol dan air. Produk juga diuji aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* menggunakan metode sumuran Kirby Bauer dan profil kromatogramnya menggunakan KLT dengan fase gerak etil asetat dan asetonitril (7:3). Kromatogram menunjukkan bercak baru dengan *R_f* 0,750 dan 0,778; berbeda dengan *R_f starting material*. Nilai titik lebur juga memberikan hasil yang berbeda dibandingkan dengan 7-ACA dan vanilin. Zona hambat bakteri produk lebih baik dibandingkan dengan starting material tetapi masih di bawah nilai dari ceftriaxone.

Kata Kunci: 7-ACA, vanilin, sintesis, aktivitas antimikroba, imina, *Staphylococcus aureus*

I. PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik adalah masalah global yang serius di setiap negara. *Center for Disease Control and Prevention of United State of America* (CDCP USA) atau Pusat Kontrol dan Pencegahan Penyakit Amerika menyatakan paling sedikitnya 2 juta orang terkena infeksi serius karena bakteri setiap tahun dengan satu atau lebih mengalami resistensi terhadap antibiotik yang diberikan untuk pengobatan infeksi. Di Amerika Serikat terdapat sedikitnya 23.000 orang mati setiap tahun sebagai hasil langsung infeksi yang mengalami resistensi antibiotik. Chinedum (2005) menyatakan terdapat beberapa pencetus terjadinya resistensi antibiotik antara lain tuntutan pasien, penulis resep, promosi antibiotik, pemberian antibiotik oleh dokter, dan penggunaan antibiotik

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

untuk pertanian. Badan CDC-P USA (2013) menyatakan lebih dari 50% antibiotik yang diresepkan tidak diperlukan atau kurang efektif. Di sisi lain antibiotik juga digunakan untuk hewan ternak sebagai pencegahan, kontrol, dan pengobatan penyakit dan digunakan untuk meningkatkan perkembangbiakan dan produksi hewan ternak. Penggunaan ini juga merupakan salah satu pemicu terjadinya resistensi antibiotik. Mereka menyatakan pula bahwa terdapat 4 kunci pengatasan resistensi antibiotik salah satunya adalah penemuan antibiotik baru.

Senyawa 7-ACA merupakan *intermedietstarting material* untuk pengembangan semisintesis turunan sefalosporin. Telah dilakukan banyak penelitian sintesis antimikrobia dengan modifikasi cincin nomor tujuh pada struktur 7-ACA yang telah terbukti dapat meningkatkan aktivitas antimikrobia senyawa tersebut (Siddarth, 2005). Penelitian ini dilakukan untuk sintesis senyawa imina dari 7-ACA yang telah dimodifikasi pada cincin sephem C7 dengan vanilin menggunakan metode sintesis Schiff base yang telah dilakukan Bonsignore *et al.* (1998) yang potensial sebagai antibiotik baru dengan katalis asam dan variasi pelarut. Vanilin merupakan salah satu senyawa fenolik dengan gugus aldehid yang mempunyai aktivitas antioksidan dan antimikroba yang potensial digunakan sebagai bahan pengawet (Burri *et al.*, 1989; Davidson and Naidu, 2000) *cit.* (Walton *et al.*, 2003). Dengan penggabungan dua molekul dengan farmakopor yang berbeda ini diharapkan dapat meningkatkan aktivitasnya. Satu molekul yang mempunyai lebih dari satu farmakopor akan memiliki sisi aktif yang berbeda sehingga aktivitasnya dapat meningkat.

Penelitian ini menggunakan variasi jenis pelarut untuk mengetahui pelarut terbaik yang dapat digunakan untuk mensintesis senyawa imina baru. Pembentukan senyawa imina (Schiff base) merupakan reaksi yang tergantung pada pH. Oleh karenanya selama proses reaksi, pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan reaktan serta diperlukan pula pelarut yang dapat menjaga pH optimum (sekitar pH 3-4) (Fessenden and Fessenden, 1986). Hasil produk yang dihasilkan kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri pada *S. aureus* menggunakan metode difusi sumuran Kirby-Bauer.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Penelitian telah dilakukan dengan menggunakan vanillin (Merck), 7-ACA (Sigma Aldrich), HCl 2N (Merck), etanol (Merck), DMSO pro analysis (Merck), asetonitril pro analysis (Merck), etil asetat pro analysis (Merck), Silica GF 254 (Merck), *Staphilococcus aureus* ATCC (Fakultas Kedokteran UNS Surakarta), ceftriaxone (Hexpram Jaya), MH (Mueller Hinton) agar media, BHI (Brain Heart Infusion) media dan larutan saline steril. Melting points (Electrothermal) tester, FTIR KBr Disc (PRESTIGE-21 Shimadzu), Silica Gel Plate GF 254 (E.Merck), Lamp UV 254 nm, inkubator (Memmert), Laminar Air Flow (LAF) (CV. Srikandi Laboratory), inkubator shaker (New Brunswick Scientific), autoclave (My Life) dan oven (Memmert) juga telah digunakan sebagai pendukung.

B. Prosedur sintesis senyawa imina

Sebanyak kurang lebih 30,0 mg 7-ACA (1 mmol) dilarutkan dengan pelarut yaitu DMSO *pro analysis*, etanol 96% *pro analysis*, dan air kemudian digojog menggunakan *vortex* selama 10 menit kemudian ditambah HCl 2N (pH 3). Campuran tersebut diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang kemudian ditambahkan kurang lebih 18,0 mg vanilin (1 mmol) yang telah dilarutkan dengan variasi pelarut DMSO *pro analysis*, etanol 96% *pro analysis*, dan air secara perlahan-lahan. Kemudian dilanjutkan diaduk dengan suhu 50°C selama 24 jam. Hasil produk kemudian diletakkan pada cawan porselen dan didiamkan dalam lemari asam selama 2 hari (evaporasi) kemudian dipindahkan pada cawan petri lainnya dan dikeringkan dalam eksikator selama 3 hari. Produk dianalisis secara KLT menggunakan fase gerak etil asetat-asetonitril (7:3) dan asetonitril-heksan (7:3) (Bonsignore *et al.*, 1998).

C. Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan metode difusi sumuran Kirby-Bauer. Sebanyak 3-5 koloni *S. aureus* diambil menggunakan ose steril dari kultur kemudian dimasukkan ke dalam 5 mL BHI steril dan ditempatkan dalam *incubator shaker* selama 2 jam. Hasil suspensi bakteri dilakukan standarisasi kekeruhan dengan standart McFarland 0,5 (10^8 CFU/mL) menggunakan larutan salin steril. Sebanyak 100 μ L suspensi diambil bakteri *S. aureus* menggunakan mikropipet dan dituangkan pada media MH padat kemudian diratakan dengan *spreader glass* steril dan ditunggu sampai

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

15 menit atau sampai bakteri terserap. Setelah bakteri terserap dibuat sumuran dengan menggunakan *cork borer* 10 mm pada media MH yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiga koma tujuh lima (3,75) µg produk, ceftriaakson, 7-ACA, dan vanilin ditimbang seksama kemudian dilarutkan dengan DMSO sampai 1 mL. Sebanyak 100 µL produk, ceftriaakson, 7-ACA, vanilin dan DMSO (konsentrasi 0,0375%) dimasukkan ke dalam sumuran pada media MH yang telah diinokulasi dengan bakteri dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambatan yang terbentuk diukur dari masing-masing sumuran.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme reaksi terbentuknya senyawa imina adalah melalui reaksi adisi eliminasi dalam suasana asam. Kelarutan merupakan faktor penting dalam sintesis senyawa organik. Dalam kondisi terlarut, *starting material* akan mudah bertumbukan antar partikel sehingga dapat bereaksi secara optimal. Kelarutan *starting material* yang baik dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia dalam sintesis. Dalam penelitian ini, sintesis senyawa imina ini digunakan variasi jenis pelarut yaitu DMSO, etanol, dan air. Hasil sintesis diperoleh rendemen *crude* dengan pelarut DMSO, etanol dan air secara berurutan adalah 100, 100 dan 93% dengan titik lebur 195-265°C, 161-177°C dan 204-238°C. Ketiga produk menghasilkan titik lebur yang berbeda dengan titik lebur *starting material* yaitu 7-ACA (lebih dari 300°C) dan vanilin (81-83°C) sehingga diduga produk menghasilkan senyawa baru (Tabel 1).

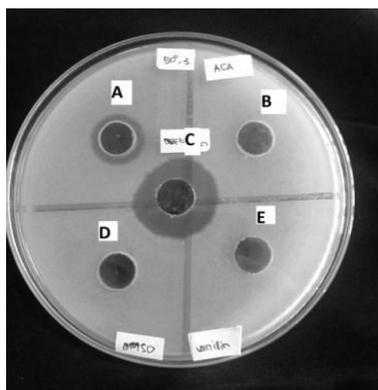
Tabel 1. Hasil sintesis dalam beberapa pelarut DMSO, etanol dan air

Pelarut	Warna	Melting point	Crude Yield
DMSO	Coklat	195-265 °C	100%
Etanol	Coklat	161-177°C	100%
Air	Putih	204-238 °C	93%

Produk akhir dianalisis menggunakan KLT fase normal dengan asetonitril-heksan (7:3) sebagai fase gerak. Produk dengan pelarut DMSO menunjukkan adanya spot yang berbeda (*Rf* 0,750) dengan spot 7-ACA dan vanilin sehingga diindikasikan terbentuk senyawa baru yang diduga merupakan senyawa target. Sedangkan hasil produk dengan pelarut etanol dan produk dengan pelarut air terbentuk spot dengan nilai *Rf* 0,625 yang sama dengan spot 7-ACA sehingga diduga tidak terbentuk senyawa baru.

Produk dianalisis menggunakan spektroskopi IR untuk mengetahui gugus fungsional dalam senyawa. Hasil spektra IR produk pelarut DMSO dibandingkan dengan spektra IR secara teori dengan 7-ACA dan vanilin. Hasil spektra IR menunjukkan puncak-puncak (cm^{-1}): 1026,13; 1126,43 dan 1234,44 (C-N); 1381,03(C-H); 1527,62 (N-O); 1735,93 (C=O); 1805,37 (C=O); 2623,19; 2684,91; dan 2808,36(H-C=O); 2893,22 dan 2939,5 (C-H); 3008,95 dan 3132,4 (C-H); dan 3425,58(OH). Bilangan gelombang 3425,58 cm^{-1} diindikasikan merupakan puncak dari gugus fungsional hidroksil (OH) yang terdapat pada senyawa karboksil 7-ACA dan fenolik vanilin. Spektra IR menunjukkan pada bilangan gelombang 3400-3200 cm^{-1} tidak terdapat puncak. Hal ini menunjukkan bahwa gugus amina primer dari 7-ACA telah tersubstitusi menjadi amina tersier. Berdasarkan hasil spektra IR dapat diprediksi bahwa sintesis yang dilakukan berhasil menghasilkan senyawa target.

Hasil uji aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa produk dengan pelarut DMSO memiliki zona hambat 15 mm. Hasil uji aktivitas ini jika dibandingkan dengan ceftriakson, DMSO, vanilin dan 7-ACA berurutan adalah 24 mm, 10 mm, 10 mm dan 10 mm. Senyawa 7-ACA merupakan *intermediet* yang disintesis dari sefalosporin C yang memiliki cincin beta laktam sehingga memiliki aktivitas antimikroba dan vanilin yang merupakan bahan pengawet juga memiliki aktivitas antimikroba namun pada percobaan ini dengan konsentrasi 0,0375%, kedua senyawa ini tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikroba. Sedangkan produk imina (Gambar 2) menunjukkan zona hambat yang lebih besar daripada 7-ACA dan vanilin namun masih kurang dari ceftriakson. Oleh karena itu aktivitas antimikroba produk dengan pelarut 7-ACA lebih baik daripada 7-ACA dan vanilin namun masih kurang dari ceftriakson. Hal tersebut menunjukkan dengan adanya penggabungan dua molekul senyawa yang memiliki aktivitas sama namun memiliki sisi aktif (farmakofor) yang berbeda dapat meningkatkan aktivitasnya.



Gambar 2. Hasil pengujian aktivitas antibakteri untuk konsentrasi 0,0375% dari produk (A), 7-ACA (B), ceftriaxone (C), DMSO (D), and vanilin (E) menggunakan bakteri *S. aureus*.

IV. KESIMPULAN

Dimetilsulfoksida merupakan pelarut yang direkomendasikan untuk sintesis senyawa imina. Senyawa 3-[(asetiloksi)metil]-7-[(Z)-[(4-hidroksi-3-metoksifenil)metilidene] amino]-8-okso-5-tia-1-azabi-siklo-[4.2.0]ok-2-en-2-karboksilat memiliki potensi sebagai antibiotik baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Bonsignore, L., Cottiglia, F., Elkhaili, H., Jehl, F., Lavagna, S. M., Loy, G., Manna, F., Monteil, H., Pompei, D., and Secci, D., 1998, Synthesis and Antimicrobial Activity of Coumarin 7-substituted Cephalosporins and Sulfones, *Il Farmaco*, 53(6): 425–430
- Center of Disease Control and Prevention (CDC-P), 2013, Antibiotic Resistance Threats in the United States, USA
- Chinedum, I. E., 2005, Microbial Resistance to Antibiotics, *African Journal of Biotechnology*, 4(13): 1606-1611
- Fessenden, R. J. and Fessenden, J. S., 1986, *Kimia Organik Jilid II Edisi Ketiga*, diterjemahkan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Jakarta: Penerbit Erlangga
- Siddharth, O. F., 2005, Design, Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Amino acid and Peptide Dervatives of 7-Aminocephalosporanic Acid, *Thesis*, Pharmaceutical Chemistry, Rajiv Gandhi University of Health Sciences
- Walton, N. J., Mayer, M. J., and Narbad, A., 2003, Vanillin. *Phytochemistry*, 63(5): 505–515

OPTIMASI SUHU SINTESIS SENYAWA DERIVAT IMINA DARI 7-ACA (ASAM 7-AMINOSEFALO-SPORANAT) DENGAN VANILLIN (4-HIDROKSI-3-METOKSIBENZALDEHID) MELALUI REAKSI ADISI-ELIMINASI

M. Kuswandi¹, Broto Santoso^{2*}, Annisa Nur Aini²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura

*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Resistensi bakteri dapat berakibat meningkatnya angka mortalitas dan morbiditas secara signifikan, terutama untuk antibiotik golongan β -laktam yang dapat dinaktivasi oleh enzim β -laktamase. Senyawa baru telah berhasil dikembangkan melalui sintesis 7-ACA, suatu amina primer, dan vanillin sebagai gugus aldehid dengan reaksi adisi-eliminasi. Percobaan ini bertujuan untuk mendapatkan produk baru pada suhu optimal yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 259213 dengan metode difusi sumuran. Metode sintesis dioptimasi pada tiga titik suhu, yaitu pada suhu 30, 50 dan 70°C dengan kondisi pH 3 selama 24 jam. Produk diukur persentase rendemen dan titik leburnya, kemudian diuji aktivitas antibakterinya. Senyawa hasil dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan spektroskopi IR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu optimum yang diperoleh adalah 70°C. Produk hasil optimasi sintesis pada suhu 70°C menunjukkan adanya spot baru diantara spot elusi vanillin dan 7-ACA. Rendemen produk yang diperoleh sebesar 93% dan memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat radikal terbesar yaitu 19 mm terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25921.

Kata Kunci: sintesis, sefalosporin, 7-ACA, vanilin, imina, reaksi adisi-eliminasi, optimasi suhu, KLT, *Staphylococcus aureus*, metode difusi sumuran

I. PENDAHULUAN

Antibiotik golongan β -laktam memiliki peran penting dalam terapi untuk mengobati berbagai infeksi bakteri gram positif maupun gram negatif. Sefalosporin dan karbapenem termasuk antibiotik golongan β -laktam yang berperan penting dalam terapi antibiotik karena dari efikasi dan keamanannya yang relatif tinggi. Namun, antibiotik golongan β -laktam dapat dinaktivasi oleh enzim β -laktamase, sehingga timbul resistensi bakteri yang terjadi sangat cepat seperti kasus *Methicillin*

resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dan *vancomycin resistant E. faecalis (VRE)* yang mengakibatkan kenaikan angka mortalitas dan morbiditas pada pasien secara signifikan (Alwan, 2012).

Sefalosporin mengandung gugus heterosiklik pada bagian substituen rantai samping asil posisi C7. Selain itu sefalosporin juga mengandung 1,3,4-tiadiazol pada posisi C3 (Ashour, Habib, and El-Taibbi, 1990). Tujuan dari penelitian ini adalah mempersiapkan derivat sefalosporin dengan ketahanan terhadap resistensi β -laktamase dan stabil dalam asam (Basoglu *et al.*, 1998). Starting material yang digunakan adalah vanilin dan 7-ACA dengan pelarut DMSO dan katalis asam. Produk yang dihasilkan adalah imina, yaitu senyawa yang memiliki gugus C=N.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan 7-ACA (Sigma Aldrich), vanilin, plat silika dari (Merck), Mueller Hinton agar (MHA) dan Brain Heart Infusion (BHI, Oxoid), ceftriaxon (Hexpharm Jaya) dan *S. aureus* ATCC 259213 (Universitas Sebelas Maret). Alat yang digunakan untuk sintesis adalah Iwaki Ecan HPS-2002 magnetic stirrer, KLT dengan lampu UV 254 nm, melting point dengan Electrothermal IA9100, dan spektrometer IR PRESTIGE-21 Shimadzu. Uji antibakteri menggunakan alat cork borer berdiameter 10 mm, LAF (*Laminar Air Flow*), inkubator (Memmert) dan *shaker* inkubator (New Brunswick Scientific).

B. Metode sintesis

Larutan vanillin (0,12 mmol) ditambahkan pada larutan 7-ACA (0,12 mmol) kemudian ditambahkan HCl 2N, diaduk pada suhu 30, 50, 70°C selama 24 jam. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan disentrifugasi selama 10 menit. Endapan dievaporasi dan dikeringkan dengan desikator selama seminggu. Produk akhir dianalisis secara KLT dengan fase gerak etil asetat:asetonitril (7:3), besar persentase rendemen, uji titik lebur, dan spektroskopi IR.

C. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan MHA steril. Diameter zona hambat dinyatakan dalam satuan milimeter (mm). Sejumlah 100 μ L suspensi bakteri *S. aureus* ATCC 259213 dipipet ke dalam media MH padat steril, *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

kemudian diratakan dengan spiderglass steril diseluruh permukaan media, dibiarkan selama 15 menit. Setelah itu media dilubangi dengan corkborer dengan diameter 10 mm. Lubang sumuran kemudian ditetesi larutan masing-masing produk, larutan ceftriaxon sebagai kontrol positif, larutan DMSO, larutan 7-ACA dan larutan vanillin. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-20 jam. Diukur diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing sumuran.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme pembentukan imina terjadi dalam dua tahap. Tahap pertama yaitu reaksi adisi antara amina nukleofilik pada karbon karbonil yang bermuatan positif parsial, diikuti dengan lepasnya proton dari nitrogen dan penerimaan proton oleh oksigen. Tahap kedua yaitu reaksi eliminasi antara gugus OH yang tak terprotonkan menjadi air.

Reaksi adisi-eliminasi dapat dipengaruhi oleh pH dan juga suhu. Dengan demikian, optimasi pH dan juga suhu dilakukan untuk memperoleh kondisi dan hasil sintesis yang optimal berupa tingginya berat produk yang dihasilkan. Pembentukan imina adalah suatu reaksi yang tergantung pada pH. Ketika pH optimum (pH 3-4), didapatkan laju reaksi keseluruhan adalah paling tinggi. Selain itu, suhu yang tinggi juga dapat mempengaruhi energi yang digunakan saat proses reaksi, sehingga dapat menghasilkan produk dengan rendemen yang tinggi.

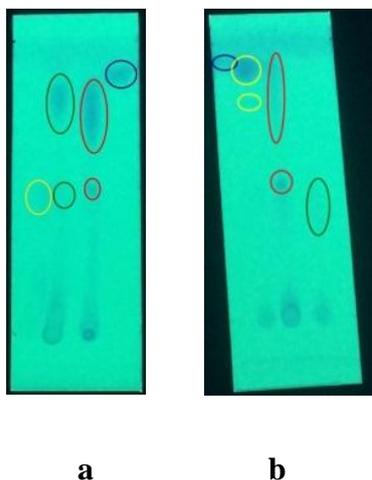
Tabel 1. Rendemen dan rentang titik lebur produk sintesis.

Produk (°C)	Rendemen (%)	Titik lebur (°C)
30	35,5	210,6-262,2
50	100,0*	178,6-210,0
70	93,0	201,3-227,1

* *Crude product*

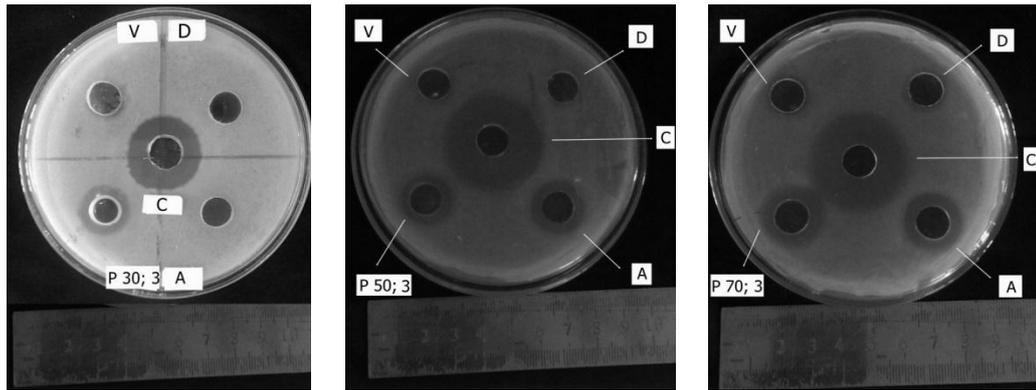
Perhitungan persentase rendemen diasumsikan dengan bobot molekul produk 406 dalam 0,12 mmol (Tabel 1). Deteksi melting point (Tabel 1) dilakukan berdasarkan nilai melting point teoritis dari vanilin yaitu 81-83°C dan 7-ACA 300°C. Hasil sintesis pada suhu 30°C berupa endapan berwarna putih dengan persentase rendemen 35,5%; melting point 210,6-262,2°C; Rf: 0,49. Data dari spektra IR (cm⁻¹) adalah 1735.93 (ester); 2684.91 (aldehid); dan diameter zona hambat sebesar 15 mm. Hasil sintesis pada suhu 50°C berupa endapan berwarna coklat dengan persentase rendemen 100,0%; melting point pada suhu 178,6-210,0°C; Rf: 0,89; bilangan gelombang pada spektra IR (cm⁻¹)

1735,93 (ester); 2800,64 (aldehid); dan diameter zona hambat sebesar 12 mm. Terakhir adalah produk pada suhu 70°C berupa endapan coklat dengan persentase rendemen 93,0%; suhu melting point 210,3-227,1°C; Rf: 0,56; bilangan gelombang pada spektra IR (cm^{-1}) adalah 1782,23 (karbonil); 3132,4 (asam karboksilat); 3387 (alkohol); dan diameter zona hambat 19 mm.

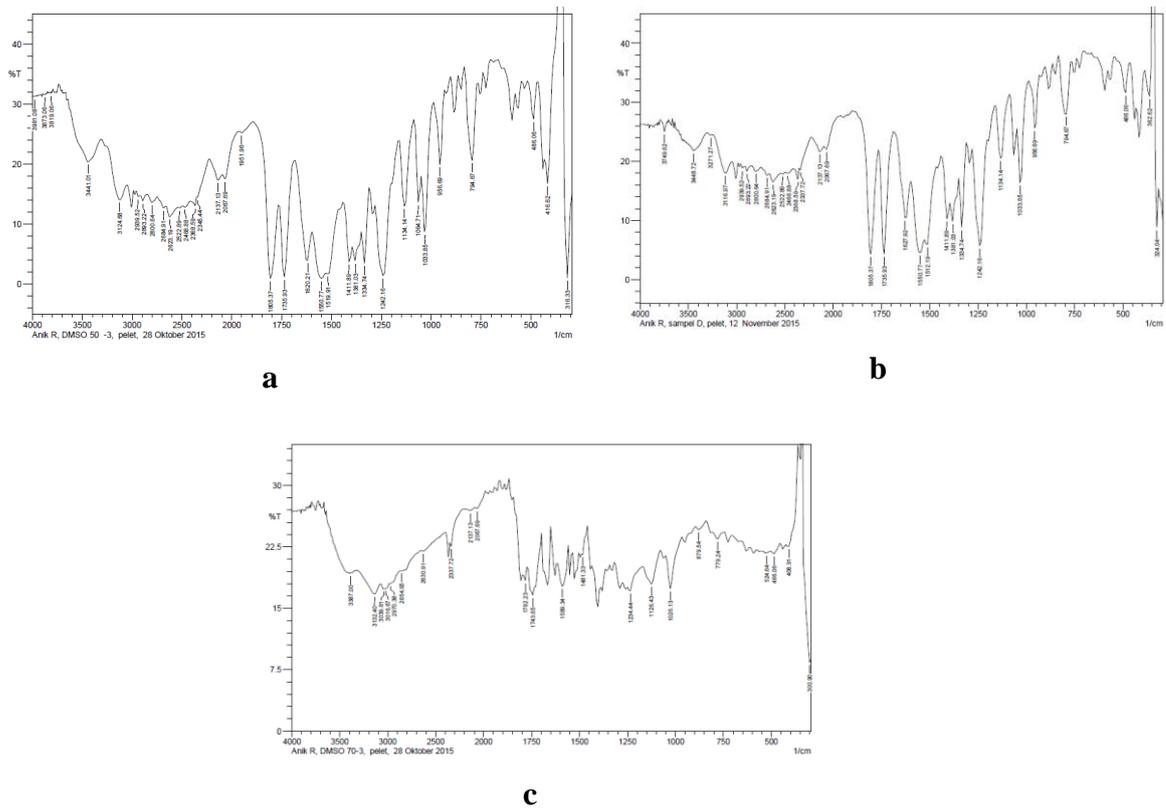


Gambar 1. Kromatogram KLT: (a) kondisi pH 5 (hijau) and 30°C (merah), 7-ACA (kuning) dan vanilin (biru); (b) suhu 50°C (kuning), 70°C (merah), vanilin (biru) and 7-ACA (hijau)

Hasil KLT ditunjukkan pada Gambar 1. Masing-masing produk memiliki nilai R_f yang berbeda dengan starting material, sehingga dimungkinkan sintesis menghasilkan senyawa baru. Namun, elusi pada KLT kurang baik yang ditunjukkan adanya *tailing* pada plat silika. Hal tersebut dapat dikarenakan adanya zat pengotor (*impurities*) dari produk dan fase gerak yang digunakan belum optimal. Hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran ditunjukkan pada gambar 2. Diameter zona hambat terbesar adalah ceftriaxon (kontrol positif). Zona hambat produk suhu 70°C merupakan yang tertinggi dibandingkan dengan produk pada suhu 30°C, 50°C, dan 7-ACA. Sedangkan vanillin dan DMSO tidak menunjukkan adanya zona hambat. Selanjutnya, hasil deteksi spektroskopi IR ditunjukkan pada gambar 3 dimana terjadi kemiripan bilangan gelombang antara produk suhu 30°C dan 50°C.



Gambar 2. Hasil radikal zona hambat aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. (A) 7-ACA, (P 30,3) pada 30°C pH 3, (P 50,3) pada 50°C pH 3, (P 70,3) pada 70°C pH 3, (C) ceftriaxone, (D) DMSO dan (V) vanillin



Gambar 3. Spektra IR untuk produk sintesis pada suhu 30°C (a), 50°C (b) dan 70°C (c).

IV. KESIMPULAN

Penelitian mengenai sintesis derivat imina dari 7-ACA dan vanillin menghasilkan produk pada masing-masing suhu yaitu suhu 30, 50, dan 70°C. Suhu yang optimal adalah 70°C yang ditunjukkan dengan persentase rendemen sebesar 93% dan diameter zona hambat 19 mm terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 259213.

DAFTAR PUSTAKA

- Alwan, S. M., 2012, Synthesis and Preliminary Antimicrobial Activities of New Arylideneamino-1,3,4-thiadiazole-(thio/dithio)-acetamido Cephalosporanic Acids, *Molecules*, 17: 1025–1038
- Ashour F. A., Habib N. S., & El-Taibbi M., (1990). Synthesis of 1,3,4-thiadiazoles, Imidazo-(1,3,4-thiadiazole) and Thiadiazole-pyrimidines Derived from Benzimidazole as Potential Antimicrobial Agents, *Il Farmaco*, 45: 1341–1349
- Basoglu, S., Demirbas, A., Ulker, S., Alpay-karaoglu, S., & Demirbas, N., 2013, Design, Synthesis and Biological Activities of Some 7-Amino Cephalosporanic Acid Derivatives, *European J. Medicinal Chemist*

TEORI FUNGSI KERAPATAN MEKANISME REAKSI ASAM 7-AMINOSEFALOSPORIN DENGAN VANILLIN (4-HIDROKSI-3-METOKSIBENZALDEHID)

Broto Santoso^{1*}, M. Kuswandi², Sri Widyaningrum¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A. Yani Tromol Pos I Pabelan Kartasura

²Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta

*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Komponen alami vanilin dan juga komponen sintetik 7-ACA, suatu turunan sefalosporin, memiliki aktivitas antibakteri. Komponen baru dapat disintesis dari vanilin dengan 7-ACA menggunakan Teori Fungsi Kerapatan (TFK). Semua profil molekul disiapkan menggunakan Marvin Sketch dan Marvin Space untuk memperoleh molekul 3D yang selanjutnya dikonversi menjadi *input file* untuk Gaussian menggunakan GaussView. Kalkulasi dilakukan menggunakan Gaussian09: DFT, menggunakan algoritma B3LYP dan BH&HLYP. Hasil energi aktivasi menunjukkan bahwa untuk B3LYP dan BH&BLYP pada suhu 25, 50 dan 75 °C berturut-turut adalah 0,4262775; 3,239867; 3,056082 dan -0,2074145; -0,640622; -1,0685785 kJ/mol. Reaksi dapat terjadi dikarenakan energi produk lebih rendah dari pada energi reaktan. Alasan ini dapat dibuktikan oleh nilai energi pada BH&HLYP dan B3LYP.

Kata Kunci: 7-ACA, vanilin, Teori Fungsi Kerapatan (TFK), pemodelan komputasi

I. PENDAHULUAN

Saat ini penggunaan antibiotik yang irrasional secara berlebihan menyebabkan resistensi bakteri. Hal ini bertolak belakang dengan penemuan antibiotik baru. (Basoglu *et al.*, 2013). Produk baru dapat disintesis dengan mereaksikan antibiotik yang sudah ada seperti asam 7-aminosefalosporin dengan bahan alam seperti vanillin. Antibiotik baru yang diharapkan memiliki toksisitas rendah, aksi penghambatan yang efektif dan resistensi bakteri dapat berkurang.

Gentili *et al.* (1999) menyebutkan bahwa turunan 7-ACA dapat disubstitusi pada bagian C-7 dengan 2-(arilmetiloksiimino)propionil. Produk dari sintesis tersebut telah diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasilnya menunjukkan produk baru memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) lebih dari 128 mg/mL. Sintesis turunan 7-ACA pada C-7 dapat digantikan dengan vanillin. Fitzgerald

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

et al. (2004) melaporkan bahwa penambahan vanillin pada konsentrasi 40 mmol/L dapat menghambat *E. coli* dan *L. innocua* dalam suspensi sel. Prediksi keberhasilan sintesis antara 7-ACA dengan vanillin menggunakan Teori Fungsi Kerapatan dengan algoritma B3LYP dan BH&HLYP pada suhu 25, 50, and 75°C.

Penelitian Jee and Tao (2005) menyatakan bahwa radikal nitrat secara signifikan berkontribusi pada proses oksidasi dimetil sulfida dalam troposfer. Prediksi ditunjukkan menggunakan Teori Fungsi Kerapatan dengan algoritma B3LYP basis set 6-31+G(d). Keadaan transisi antara reaksi dimetil sulfida dengan nitrat dioptimasi dengan algoritma diatas dan pada suhu yang berbeda. Energi yang diperoleh pada reaktan, keadaan transisi dan produk akhir memiliki nilai energi aktivasi negatif dan reaksi ini tergantung pada suhu rendah.

II. METODE PENELITIAN

Reaksi sintesis ini membutuhkan bahan perangkat lunak seperti Marvin Sketch, Marvin Space, dan Gaussian09. Komputasi yang telah dilakukan menggunakan komputer dengan Intel-i7 Quadcore Processor 3.4 GHz RAM 8GB. Proses persiapan molekul dilakukan di Marvin Sketch kemudian molekul disimpan dalam Marvin Space untuk mendapatkan struktur 3D. Semua molekul dimasukkan dalam GaussView untuk perhitungan Gaussian 09. Struktur dapat dikalkulasi menggunakan algoritma B3LYP dan BH&HLYP dengan basis set 6-31+G(d,p). Data yang diperoleh dihitung nilai ΔG , ΔH , ΔG_r and ΔH_r dalam kJ/mol. Hasil yang didapatkan juga dikalikan dengan konstanta HF pada setiap molekul untuk mendapatkan struktur 3D yang sudah dioptimasi dan dapat diketahui reaksi berjalan spontan atau tidak.

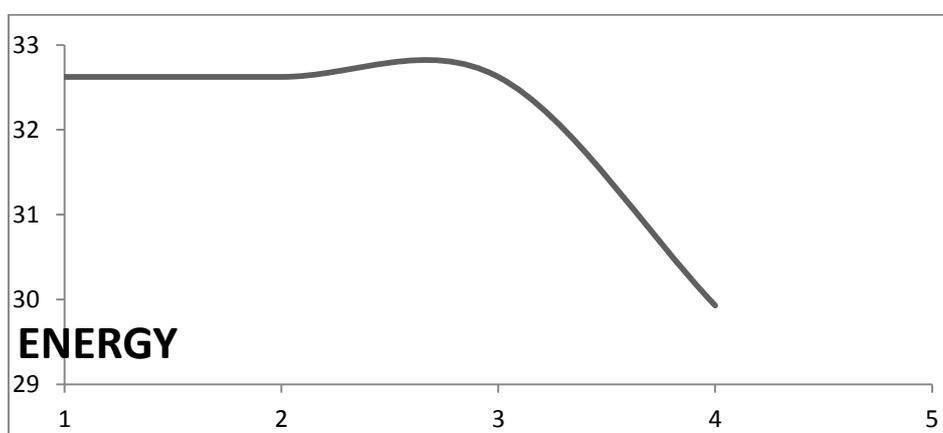
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Perhitungan dapat ditunjukkan pada molekul reaktan, keadaan transisi, dan produk pada temperatur 25, 50, dan 75 °C dan pada algoritma B3LYP dan BH&HLYP (Tabel 1). Hasil pada BH&HLYP dan B3LYP menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu reaksi maka membutuhkan energi aktivasi yang paling rendah. Energi aktivasi merupakan energi terendah yang dibutuhkan reaksi untuk memperoleh produk. Jika nilai energi aktivasi dalam reaksi kecil dan negatif maka reaksi berjalan secara spontan. Data Algoritma BH&HLYP menunjukkan hasil reaksi berjalan secara spontan. Perhitungan

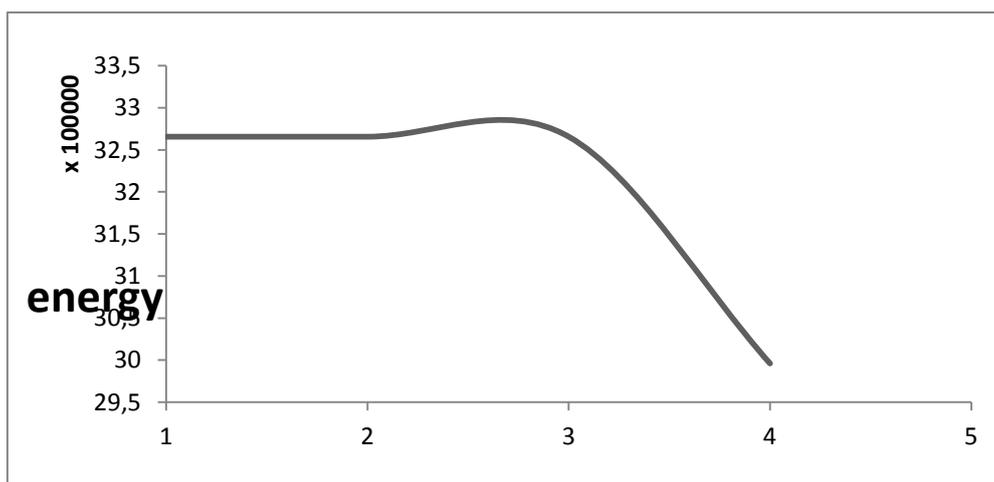
*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

algoritma B3LYP memperoleh nilai energi aktivasi positif. Dapat diartikan bahwa pada keadaan standar, reaksi dapat berjalan namun tidak secara spontan. Reaksi tersebut membutuhkan energi tambahan dari luar untuk memperoleh produk.

Suhu dapat mempengaruhi reaksi karena dapat meningkatkan kecepatan kinetika reaksi untuk partikel bertumbukan. Hal tersebut juga dapat mengetahui energi yang dibutuhkan untuk dapat meningkatkan kecepatan laju reaksi. Berdasarkan Gambar 1 dan 2, energi optimasi yang dikalikan dengan konstanta HF pada setiap molekul, konformasi 3D optimal setiap struktur molekul dibandingkan dengan grafik ideal (Fessenden and Fessenden, 1982).



Gambar 1. Energi optimasi dari reaktan (1, 2), *transition states* (3) dan produk (4) menggunakan algoritma BH&HLYP.



Gambar 2. Energi optimasi dari reaktan (1, 2), *transition states* (3) dan produk (4) menggunakan algoritma B3LYP.

Tabel 1. Hasil perhitungan untuk reaktan, *transition states* dan produk dari reaksi.

Suhu (°C)	BH&HLYP (kJ/mol)				B3LYP (kJ/mol)			
	ΔG	ΔH	ΔGr	ΔHr	ΔG	ΔH	ΔGr	ΔHr
25	-0.207414	4.9070595	200557.8387	200544.874	3.426277	5.629072	200656.9776	200639.982
50	-0.64062	4.920187	200558.9546	200544.186	3.239867	5.639574	200658.4426	200639.058
75	-1.06857	4.9333145	200249.3031	-200543.456	3.056082	5.650076	200659.9812	200638.092

Reaksi ini memiliki nilai energi aktivasi rendah dan negatif ketika dihitung menggunakan algoritma BH&HLYP. Reaksi addisi-eliminasi dapat berjalan menggunakan kedua algoritma tersebut berdasarkan nilai energi yang dioptimasi pada setiap molekul dan hasil negatif pada energi aktivasi. Pemaparan tersebut dapat disimpulkan bahwa reaksi tersebut berjalan secara spontan untuk membentuk produk. Penelitian ini serupa dengan penelitian Jee and Tao (2005) yang menggunakan Algoritma B3LYP dengan basis set 6-31+G(d) pada suhu yang berbeda. Reaksi antara dimetil sulfida dengan nitrat menghasilkan molekul transisi yang dioptimasi dengan parameter diatas. Energi yang diperoleh pada reaktan, keadaan transisi dan produk akhir memiliki nilai energi aktivasi negatif dan reaksi ini tergantung pada suhu rendah.

IV. KESIMPULAN

Reaksi diprediksi pada kedua algoritma yaitu BH&HLYP dan B3LYP memiliki energi aktivasi yang rendah. Reaksi spontan terjadi pada algoritma BH&HLYP, tetapi kondisi pada reaksi ini perlu dikaji ulang misalnya keasaman yang dapat mempengaruhi laju kecepatan reaksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Basoglu, S., Demirbas, A., Ulker, S., Alpay-Karaoglu, S. and Demirbas, N., 2013, Design, Synthesis and Biological Activities of Some 7-Amino Cephalosporanic Acid Derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry*
- Fitzgerald, D. J., Stratford, M., Gasson, M. J., Ueckert, J., Bos, A. and Narbad, A., 2004, Mode of Antimicrobial Action of Vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*, *J. Applied Microbiology*, 97: 104–113
- Fessenden, R. J. and Fessenden, J. S., 1982, *Kimia Organik Edisi3 Jilid 2*, Jakarta: Erlangga
- Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

- Gentili, D., Macchia, M., Menchini, E., Nencetti, S., Orlandini, E., Rossello, A., Broccali, G. and Limonta, D., 1999, Synthesis and Antimicrobial Properties of Cephalosporin Derivates Substituted on the C (7) Nitrogen with Arylmethoxyimino or Arylmethoxyimino Alkanoyl Groups, *Il Farmaco*. 54(4): 224-231
- Jee, J. and Tao, F. M., 2005, Reaction Mechanism and Kinetics for the Oxidation of Dimethyl Sulfide by Nitrate Radical, *Chemical Physics Letters*, 420(4): 336-339

PENILAIAN HASIL *MOLECULAR DOCKING* TURUNAN ZERUMBON SEBAGAI INHIBITOR PTP1B MENGGUNAKAN DOCK6

Broto Santoso^{*}, Muhammad R. As Sabiq, Muhammad Da'i, Dedi Hanwar, Andi
Suhendi

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl A. Yani Tromol Pos I Pabelan Kartasura,

^{*}Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Zerumbon merupakan senyawa dengan potensi biologis yang beragam. Salah satu diantaranya adalah kemampuannya dalam menurunkan kadar gula darah melalui penghambatan enzim *Protein Tyrosine Phosphatase 1B* (PTP1B). Enzim ini, berjumlah sangat signifikan di dalam jaringan yang mejadi target insulin seperti hati, otot dan lemak, yang berperan penting sebagai regulator negatif untuk tranduksi sinyal insulin. Percobaan *in silico* telah dilakukan di dalam lingkungan Linux melalui beberapa tahapan, yaitu preparasi komponen ligan dan protein, validasi metode *in silico*, *docking* molekular menggunakan DOCK6, analisis hasil dan visualisasi interaksi 3D ligan-protein. Visualisasi 3D dihasilkan menggunakan PLIP untuk memperlihatkan interaksi yang terjadi antara ligan uji dibandingkan dengan ligan *native*. Ligan uji, turunan zerumbon yang digunakan, adalah ZERPH01, ZERPH02 dan ZERPH03. Tidak ada satu pun ligan uji yang tidak mmpunyai aktivitas penghambatan (afinitas ikatan) yang lebih baik dibandingkan dengan zerumbon dan zerumbol. Jika dibandingkan dengan ligan *native*, ligan uji mempunyai aktivitas lebih rendah sebagai inhibitor PTP1B.

Kata Kunci: turunan zerumbon, *protein tyrosine phosphatase 1B*, *docking* molekular, DOCK6

I. PENDAHULUAN

Aktivitas biologis zerumbon yang sudah diketahui dalam bidang medis, adalah sebagai antikanker, antioksidan, anti-inflamasi, antipiretik, antibakteri, anti malaria dan antivirus (Sriphana *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2012; Sutthanont *et al.*, 2010). Hasil penelitian menunjukkan bahwa zerumbon memiliki aktivitas anti-diabetes; dapat menurunkan kadar gula darah mencit yang diinduksi dengan aloksan (Sakika *et al.*, 2014). Menurut hasil *reverse molecular docking* (Santoso *et al.*, 2014), interaksi zerumbon dengan protein 39DC (struktur kristal dari asam kompleks PTP1B dengan aril Seleninic) merepresentasikan mekanisme penghambatan tirosin fosforilasi sebagai aktivitas anti-diabetes. Hati, otot, dan lemak merupakan jaringan yang ditargetkan oleh insulin, di mana Protein Tyrosine Phosphatase 1 B (PTP1B) memainkan peran penting

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

sebagai regulator negatif untuk sinyal transduksi insulin. Dalam jumlah besar, PTP1B akan merusak regulasi insulin yang dapat menyebabkan diabetes mellitus tipe II (Saifudin *et al.*, 2012).

Penelitian sebelumnya telah dinyatakan bahwa untuk memperbaiki sifat fisika-kimia zerumbon, beberapa turunan telah ditemukan dan dibuat secara sintesis (Kitayama *et al.*, 2013), yang diharapkan dapat meningkatkan efek farmakologisnya. Hasil *molecular docking* zerumbon sebelumnya menunjukkan bahwa mekanismenya berdasarkan penghambatan PTP1B, menjadi alasan dilakukan penelitian menggunakan senyawa turunannya. Hasil yang diharapkan adalah aktivitas inhibisi dan *binding affinity* yang lebih baik dibandingkan zerumbon dan ligan *native* dari protein target.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan komputer dalam lingkungan Linux, dan perangkat lunak kimia seperti Marvin Beans Suite, Chimera, DOCK6, PyMOL, dan PLIP. Terdapat 117 jenis protein dari PTP1B dan 5 ligan yang akan diuji, yaitu zerumbon, zerumbol, [4-4,8-trimetil-7-oksosikloundeka-1,5,8-trien-1-il]metil asetat (ZERPH01), [4-4,8-trimetil-7-oksosikloundeka-1,5,8-trien-1-il]metil format (ZERPH02), dan 6-(hidroksimetil)-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on (ZERPH03).

B. Metodologi

Tujuan preparasi protein target adalah untuk memisahkan ligan *native* dari protein menggunakan Chimera untuk menghasilkan beberapa file, yang dibutuhkan dalam langkah berikutnya (validasi metode *molecular docking*). Ligan yang diuji dipreparasi menggunakan perangkat lunak yang sama. Validasi *docking* konformasi ligan *native* dilakukan terhadap struktur kristalografinya. *Grid score* dari ligan-protein diperoleh dengan *molecular docking*, dan hasilnya dianalisis dengan PLIP. PyMOL digunakan untuk memvisualisasikan interaksi tersebut.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil preparasi dan validasi metode dengan ligan *native* diperoleh 55 protein, yang dapat digunakan dalam *molecular docking* menggunakan senyawa zerumbon dan

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

turunannya. Berdasarkan hasil *molecular docking*, turunan senyawa ZERPH01, ZERPH02 dan ZERPH03 memiliki aktivitas inhibisi lebih baik dari zerumbon dan zerumbol, tetapi dibandingkan dengan ligan *native* aktivitas inhibisi yang dimiliki lebih rendah (Tabel 1 dan 2).

Meskipun *grid score* dari ligan yang diuji tidak memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan ligan *native*, penelitian ini dapat menemukan kesamaan mekanisme interaksi antara ligan yang diuji dengan ligan *native* dari protein target. Hal tersebut dilakukan dengan memilih 10 protein terbaik dari setiap derivatif berdasarkan nilai *grid score* yang lebih baik dari *grid score* zerumbon (Tabel 1) dan yang nilainya dekat dengan *grid score* ligan *native* (Tabel 2). Hasil kedua metode tersebut dapat dibandingkan untuk menemukan residu paling banyak terlibat. Ligan membutuhkan energi untuk dapat berikatan dengan *active site* dari protein, yang disebut *grid score* (Santoso *et al.*, 2014). Ikatan yang terbentuk antara ligan dan protein dapat terjadi secara spontan jika afinitas tinggi ditunjukkan dengan nilai *grid score* yang lebih negatif.

Tabel 1. Sepuluh besar *grid scores* turunan zerumbon yang lebih baik nilainya dari zerumbon

Ligan	PDB ID (<i>grid score</i> dalam kcal/mol)									
	1bzc	1ecv	1g7g	1ony	1onz	1wax	2cmc	2h4g	2hb1	2nt7
Native	-66,106	-41,410	-82,508	-87,593	-59,045	-48,351	-80,159	-64,200	-61,438	-80,901
Zerumbon	-16,130	-19,556	-19,908	-24,260	-25,520	-18,653	-19,480	-20,084	-14,154	-19,931
Zerumbol	-19,44	-22,459	-22,971	-27,125	-29,250	-22,379	-19,682	-24,805	-16,411	-22,015
ZERPH01	-24,49	-27,828	-26,169	-30,673	-32,920	-26,421	-26,931	-27,149	-25,531	-28,148
ZERPH02	-27,008	-27,242	-28,178	-32,989	-34,496	-26,859	-24,918	-27,825	-25,591	-28,612
ZERPH03	-21,159	-25,107	-25,200	-30,294	-31,069	-25,794	-25,466	-25,467	-24,841	-24,802

Tabel 2. Sepuluh besar *grid scores* turunan zerumbon yang mendekati nilai dari *native*

Ligan	PDB ID (<i>grid score</i> dalam kcal/mol)									
	1c83	1c88	1ecv	1t48	2bgd	2bge	2cm8	2cnf	2f6w	2f6y
Native	-44,236	-44,007	-41,410	-43,793	-28,573	-29,270	-30,131	-38,944	-38,040	-40,649
Zerumbon	-22,029	-22,882	-19,556	-20,347	-21,780	-21,363	-20,394	-22,203	-24,101	-19,647
Zerumbol	-22,294	-21,208	-22,459	-19,990	-21,753	-18,620	-21,406	-21,672	-24,928	-19,630
ZERPH01	-25,881	-27,840	-27,828	-24,503	-28,407	-27,217	-28,184	-26,844	-28,304	-25,909
ZERPH02	-26,868	-26,837	-27,242	-23,686	-27,489	-27,277	-26,398	-28,138	-27,394	-24,976
ZERPH03	-22,976	-22,579	-25,107	-21,067	-26,031	-26,231	-23,752	-25,701	-26,501	-21,720

Perbedaan nilai *grid score* antara Tabel 1 dan Tabel 2 tidak jauh berbeda. Ligan *native* memiliki aktivitas paling baik. Nilai aktivitasnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan turunan zerumbon dimungkinkan karena dapat mengikat residu yang lebih banyak. Residu yang mungkin terlibat dalam mekanisme inhibisi ditemukan

menggunakan PLIP. Semua interaksi protein (20 protein) divisualisasikan menggunakan PyMOL dalam interaksi ligan-residu (data tidak ditampilkan).

Residu yang berperan dalam untuk membentuk ikatan hidrogen adalah ARG-46, ARG-254, GLY-259, LYS-116, LYS-120, SER-216. Dalam Interaksi hidrofobik residu yang berperan adalah ILE-219, TYR-46, ALA-217, MET-258 dan *salt bridge* dibentuk oleh ARG2-4. Beberapa residu muncul pada semua (3 jenis senyawa) turunan yang memainkan peran yang sama di setiap turunan (tetapi tidak muncul di ligan *native*). ILE-219 dari 1ecv dan 2h4g, MET-258 dari 2nt7 berperan untuk membentuk interaksi hidrofobik. ARG-254 dari 2nt7, LYS-116 dan LYS1-20 dari 1ony berperan untuk membentuk ikatan hidrogen. Residu lain muncul pada 2 dari 3 derivatif, seperti ILE-219, MET-258, ALA-217, ARG-221 berperan dalam interaksi hidrofobik dan ARG-46, GLY-259, ARG-254, LYS-116, LYS-120 berperan untuk membentuk ikatan hidrogen.

Residu yang berperan dalam membentuk ikatan hidrogen adalah GLY-259, ARG-254. Interaksi hidrofobik terbentuk oleh residu TRP-291, ILE-219. Beberapa residu muncul di semua turunan yang memainkan peran yang sama di setiap turunan (tetapi tidak muncul di ligan *native*). ILE-219 dari 1ecv, GLU-132, ILE-134, LYS-141, LEU-142 dari 2cm8 berperan untuk membentuk interaksi hidrofobik. ARG-254 dari 1c83 dan 2bge terlibat dalam pembentukan ikatan hidrogen. Residu lain yang muncul di 2 dari 3 turunan, seperti ILE-219, MET-258, MET-133, berperan dalam interaksi hidrofobik dan ARG-24, GLY-259, LYS-150, ARG-254, MET-133, LEU-144 berperan terbentuknya ikatan hidrogen.

Apabila dibandingkan dengan ligan asli, jenis asam amino yang berperan dalam mengikat sebagian besar berbeda dengan turunan zerumbon. Meskipun beberapa turunan menyajikan residu yang sama, jumlahnya sedikit. Pengembangan zerumbon derivatif baru yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa dengan aktivitas yang lebih baik dengan mengikat residu lebih banyak.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan *molecular docking*, senyawa turunan ZERPH01, ZERPH02 dan ZERPH03 memiliki aktivitas inhibisi terhadap PTP1B lebih baik daripada zerumbon dan zerumbol; memiliki aktivitas inhibisi yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan *native*. Hasil visualisasi 3D dari interaksi residu-ligan menunjukkan bahwa jenis asam

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

amino yang berperan pada ligan *native* dalam proses *binding* sebagian besar berbeda dengan yang berperan pada turunan zerumbon.

DAFTAR PUSTAKA

- Kitayama, T., Nakahira, M., Yamasaki, K., Inoue, H., Imada, C., Yonekura, Y., *et al.*, 2013. Novel Synthesis of Zerumbon-Pendant Derivatives and Their Biological Activity, *Tetrahedron*, 69: 10152-10160
- Sakika, K.A., Hanwar, D., Suhendi, A., Kusumowati, I.T.D., and Santoso, B., 2014. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Emprit (*Zingiber AmERICANS* Bl) pada Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan. Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terbaru Pemanfaatan Herbal sebagai Agen Preventif pada Terapi Kanker, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, September 2014, 5-9
- Saifudin, A., Tanaka, K. and Kadota, S., 2012. Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) -Inhibiting Constituents from the Leaves of *Syzygium polyanthum*. Division of Natural Product Chemistry, Institute of National Medicine, University of Toyama, 1: 1378–1381
- Santoso, B., Hanwar, D., Suhendi, A., Kusumowati, I.T.D., and Melannisa, R., 2014. Docking Molekular Terbalik dari Senyawa Zerumbon. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami [SPBOA] XVI & Mukhtar XII PERHIPBA, 23-24 April 2014, 464-474
- Singh, C. B., Nongalleima, Kh., Brojendrosingh, S., Ningombam, S., Lokendrajit, N., Singh, L. W., 2012. Biological and chemical properties of *Zingiber zerumbet* Smith: A review. *Phytochemistry Reviews*, 11(1): 113–125
- Sriphana, U., Pitchuanom, S., Kongsaree, P., and Yenjai, C., 2013. Antimalarial Activity and Cytotoxicity of Zerumbone Derivatives. *Science Asia*, 39(1): 95–99

KEMAMPUAN INTERAKSI 3D TURUNAN ZERUMBON DENGAN PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE 1B (PTP1B)

Broto Santoso*, Muhammad Haqqi, Muhammad Da'i, Dedi Hanwar, Andi Suhendi
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl A. Yani Tromol Pos I Pabelan Kartasura,
*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Penghambatan enzim protein tirosin fosfatase 1B (PTP1B) menghasilkan sensitisasi fungsi *signalling* dan proteksi pada insulin terhadap diet yang diinduksi obesitas. *Docking* molekular dapat menampakkan pendekatan posisi, orientasi dan konformasi 3D suatu ligan yang terikat dengan reseptor target. Penelitian telah dilakukan menggunakan perangkat lunak Marvin Beans Suite, Chimera, DOCK6, PyMOL dan *Protein Ligand Interaction Profiler* (PLIP) pada OS Linux. *Docking* molekular melibatkan 117 protein target dari PTP1B dan 3 ligan uji yang merupakan turunan poli-hidroksil zerumbon. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya 4 interaksi ligan-protein (1ECV, 1T48, 2F6W and 2F6Y) yang memberikan skor grid yang lebih baik dibandingkan dengan ligan *native* menggunakan metode fleksibel. Substitusi gugus metil pada zerumbon dengan gugus polar meningkatkan afinitas ikatan dengan protein target. Semua ligan uji memiliki skor grid lebih rendah dibandingkan dengan ligan *native* untuk protein 2F6W dan 2F6Y. Terdapat 2 ligan (ZERPH04 and ZERPH05) yang mempunyai afinitas lebih baik pada 1T48, sedangkan hanya ada 1 ligan (ZERPH05) yang memberikan skor grid lebih kuat dibandingkan dengan ligan *native* setelah dilakukan *docking*.

Kata Kunci: docking molekular, PTP1B, turunan zerumbon, energi afinitas ikatan

I. PENDAHULUAN

Berdasarkan data dari International Diabetes Foundation, angka kejadian diabetes di dunia pada tahun 2014 adalah 387 miliar. Sementara itu, di Indonesia terdapat 9 juta kasus diabetes. Dengan menggunakan data ini, proyeksi kasus pada 2035 akan meningkat menjadi 21,3 juta (Wild *et al.*, 2004). Protein target yang bertanggung jawab pada penyakit diabetes mellitus telah dipelajari lebih lanjut dan salah satunya melalui mekanisme penghambatan PTP1B.

Penghambatan PTP1B menghasilkan sensitisasi fungsi signalling insulin dan proteksi pada insulin terhadap diet yang diinduksi obesitas. Efek ganda PTP1B ini membuatnya menjadi target menarik dalam pengobatan Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan membahas

isu penting untuk metode pengobatan saat ini (Montalibet dan Kennedy, 2005). Enzim PTP memainkan peran kunci dalam regulasi aksi insulin dengan de fosforilasi teraktifkan, auto fosforilasi IR dan downstream protein substrat seperti IRS-1/2 (Koren dan Fantus, 2007). Studi docking molekular antara PTP1B dan ligan zerumbon menunjukkan adanya afinitas pengikatan. Aktivitas dari senyawa diisolasi dengan enzim PTP1B masih lemah. Ini terkait dengan polaritas ligan (Saifudin *et al.*, 2013).

Zerumbon adalah senyawa mayor yang terdapat pada *Zingiber zerumbet*, Smith (Tzeng *et al.*, 2013). Zerumbon memiliki berbagai efek farmakologis, termasuk antioksidan, antivirus, antiinflamasi, hepatoprotection, antiplatelet agregasi, dan antibakteri (Zhang *et al.*, 2012). Zerumbon memiliki reaktivitas laten yang tinggi karena memiliki tiga ikatan ganda. Mereka adalah dua ikatan alkena dan keton *crossconjugated* pada cincin nomor 11 (Kitayama, 2011; Nadzri *et al.*, 2013). Zerumbon memiliki PTP1B nilai aktivitas penghambatan $15,9 \pm 4,1\%$ pada 10 mg/mL dengan studi *in vitro* (Saifudin *et al.*, 2012).

Docking molekular dapat memprediksi posisi, orientasi dan konformasi asli dari ligan molekular kecil di dalam sisi ikatan dari makromolekul target (Zoete *et al.*, 2009). Keuntungan dari studi *docking*: pemodelan struktural akurat dan prediksi dengan tepat dari aktivitasnya (Kitchen *et al.*, 2004). *Docking* molekular sebelumnya telah dilakukan terhadap zerumbon dengan protein target menunjukkan zerumbon memiliki aktivitas anti-diabetes dengan target (Santoso *et al.*, 2014). Sifat hidrofilik situs katalitik PTP1B lebih menyukai gugus hidrofilik untuk interaksi yang menguntungkan (Zhao *et al.*, 2004). Penelitian ini dilakukan dengan uji *in silico* dari zerumbon tersubstitusi gugus polar untuk meningkatkan afinitas ikatannya dengan PTP1B.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Penelitian telah dilakukan dengan menggunakan komputer dengan spesifikasi Intel Core i3 CPU 2.13 GHz, RAM 3 GB, Intel HD Graphics dan perangkat lunak kimia seperti *Marvin Beans Suite*, *Chimera*, *PyMOL*, *DOCK6.7* dan *PLIP*. Target protein telah dikumpulkan dari www.rcsb.org. terdapat 177 protein sebagai target PTP1B dan tiga ligan uji berupa [4,4,8-trimetil-7-oksosikloundeka-1,5,8-trien-1-il] metil 2,3,4,5,6-pentahidroksiheksanoat (ZERPH04), [4,4,8-trimetil-7-oksosikloundeka-1,5,8-trien-1-*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

il]metil 2,3,4,5,6,7-heksahidroksiheptanoat (ZERPH05) dan 2,3-dihidroksi-4-okso-4-
{[4,4,8-trimetil-7-oksosiklo-undeka-1,5,8-trien-1-il] metoksi }butanoat (ZERPH06).

B. Metodologi

Semua protein serta ligan aslinya dipreparasi menggunakan Chimera. Validasi metode *docking* telah dilakukan untuk mendapatkan nilai ukuran grid box membandingkan nilai RMSD antara ligan asli kristalografi dan ligan asli yang *didocking*. Zerumbon, ligan derivatnya dan protein telah dilakukan *docking* molekuler menggunakan DOCK6 dengan perhitungan flexible dan rigid. Interaksi ligan-protein diperoleh menggunakan PLIP. Hasil interaksi *docking* digambarkan menggunakan PyMOL.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hanya terdapat 55 protein dari 117 yang dapat dilakukan untuk *docking* dengan ligan. Validasi metode adalah langkah yang penting untuk menganalisis *grid box* dan nilai RMSD. Sistem yang dipilih dari *docking* molekuler untuk protein menunjukkan dengan RMSD kurang dari 5. Ini menunjukkan bahwa posisi dan orientasi ligan *didocking* mirip dengan ligan kristalografi dan mendekati kondisi sebenarnya dalam tubuh manusia. Protein yang tidak terpilih masih dapat digunakan untuk *docking* tetapi dapat meningkatkan ketidakpastian. Hasil *docking* terbaik dari ligan uji ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil *docking* molecular yang dinyatakan sebagai grid score dari DOCK6

PDB ID	Ligan Native	Grid Score dari ligan (kcal/mol)			
		Zerumbon	ZERPH04	ZERPH05	ZERPH06
1ECV	-41.409973	-19.556461	-41.488949	-45.645039	-39.635265
1T48	-43.792625	-20.346582	-44.486103	-48.81712	-37.955299
2F6W	-38.039635	-22.464394	-41.751122	-41.52634	-39.251881
2F6Y	-40.649033	-19.572298	-41.736217	-43.80904	-43.310192

Grid Score adalah energi ikatan dari ligan yang diperlukan untuk mengikat sisi aktif protein. Energi ikatan dinyatakan sebagai energi Gibbs. Energi ini menunjukkan bahwa ikatan yang terbentuk antara ligan dan protein yang bisa terjadi secara spontan dengan afinitas tinggi jika nilainya lebih negatif (Hardono, 2013). Hal ini juga dapat meningkatkan kekuatan ikatan ligan-protein.

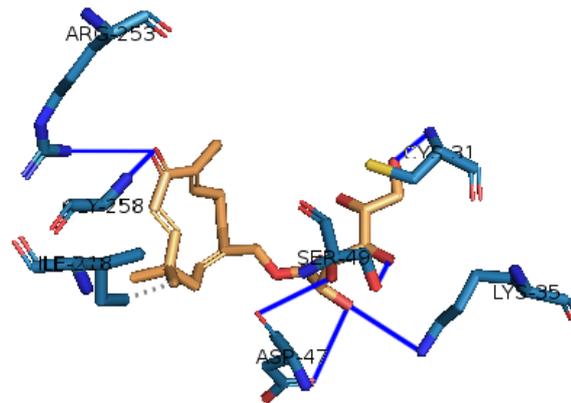
*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Residu yang berperan dalam ikatan dengan protein target 2F6W dengan ligan adalah ILE-218. Residu ini membentuk interaksi hidrofobik. Residu GLY-258 bisa membentuk ikatan hidrogen dengan ligan. Hasil ini memiliki interaksi residu berbeda dibandingkan dengan ligan asli. Residu PHE-182 berperan penting untuk membentuk interaksi hidrofobik dan ARG-24, GLN-262 dan ALA-217 (ikatan hidrogen) antara protein target 2F6Y dengan ligan. Tidak ada residu yang sama antara ligan uji dengan ligan asli.

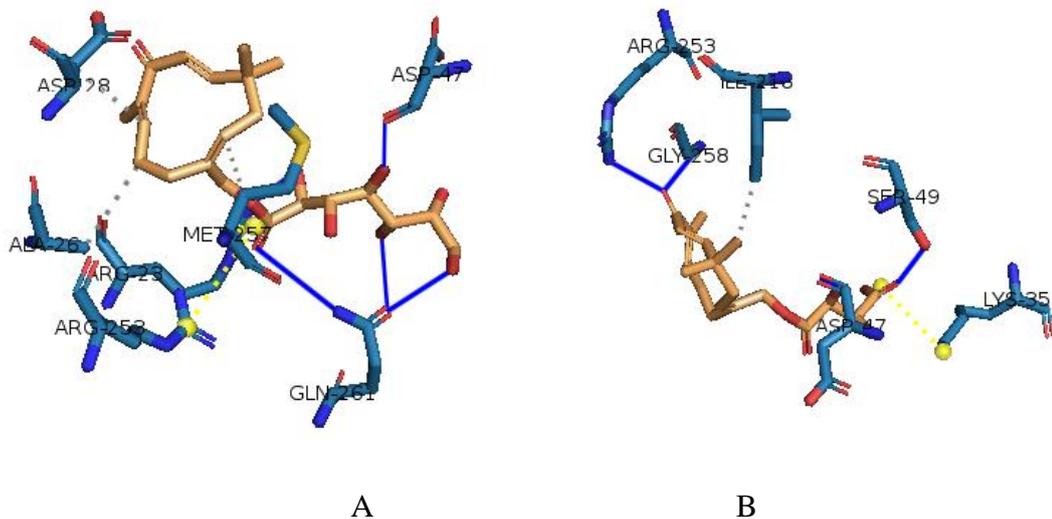
Tabel 2. Profil interaksi ligan-protein untuk 2F6W dan 2F6Y menggunakan PLIP

PDB ID	Ligan	Tipe Ikatan	Residu
2F6W	Ligan Native	<i>Hydrophobic</i>	ASP-48, VAL-49, PHE-182, ALA-217, ILE-219
		<i>Hydrogen bonds</i>	SER-216, ALA-217, GLY-218, ILE-219, GLY-220, ARG-221
		<i>Water bridge</i>	PHE-182
		<i>Salt bridge</i>	ARG-221
	ZERPH04	<i>Hydrophobic</i>	ILE-219
		<i>Hydrogen bonds</i>	CYS-31, LYS-35, ASP-47, SER-49, ARG-253, GLY-258
	ZERPH05	<i>Hydrophobic</i>	ALA-26, ASP-28, MET-257
		<i>Hydrogen bonds</i>	ARG-23, ASP-47, GLN-261
		<i>Salt bridge</i>	ARG-23, ARG-253
	ZERPH06	<i>Hydrophobic</i>	ILE-219
<i>Hydrogen bonds</i>		ASP-47, SER-50, ARG-253, GLY-258	
<i>Salt bridge</i>		LYS-35	
2F6Y	Ligan Native	<i>Hydrophobic</i>	TYR-46, PHE-182, ALA-217, ILE-219
		<i>Hydrogen bonds</i>	<u>ASP-181</u> , SER-216, ALA-217, GLY-218, ILE-219, GLY-220, ARG-221
		<i>Water bridge</i>	PHE-182
		<i>Salt bridge</i>	ARG-221
		<i>Phi-stacking</i>	TYR-46
	ZERPH04	<i>Hydrophobic</i>	PHE-182
		<i>Hydrogen bonds</i>	ARG-24, SER-28, ARG-254, GLY-259, GLN-262
		<i>Salt bridge</i>	ARG-24
	ZERPH05	<i>Hydrophobic</i>	ASP-48, PHE-182
		<i>Hydrogen bonds</i>	ARG-24, LYS-120, <u>ASP-181</u> , SER-216, ALA-217, GLN-262
	ZERPH06	<i>Hydrophobic</i>	TYR-46, ASP-48, PHE-182
		<i>Hydrogen bonds</i>	TYR-46, PHE-182, SER-216, ALA-217, GLY-220, ARG-221
		<i>Salt bridge</i>	ARG-221

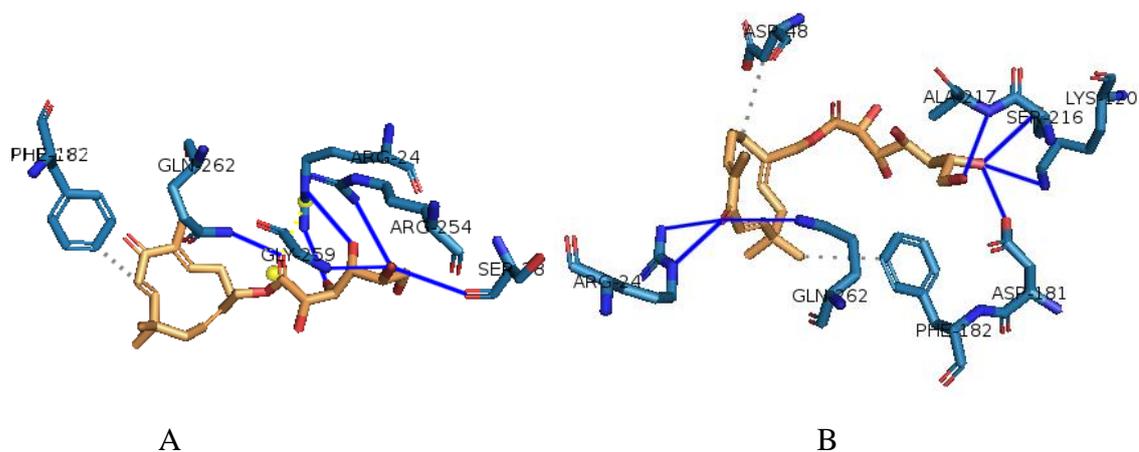
Residu yang berperan dalam interaksi hidrofobik adalah 219 ILE dan ikatan hidrogen adalah 36 LYS, 48 ASP, 50SER dan 259 GLY antara protein target kode PDB 1ECV dengan ligan uji. Ada residu asam amino yang memiliki kesamaan dengan ligan asli, yaitu 254 ARG dan 259 GLY. Terdapat beberapa residu dari 1ECV yang memiliki pengaruh yang signifikan untuk interaksi ligan-protein, khususnya ILE-219 (hidrofobik), LYS-36 dan ASP-48 (ikatan hidrogen). Mereka berbeda dengan ligan asli. Ligan asli memiliki interaksi dengan residu, ARG-254 dan GLY-259 (data tidak ditunjukkan).



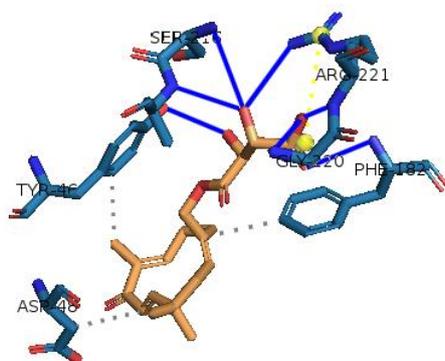
Gambar 1. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH04 dan protein 2F6W



Gambar 2. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH05 (A) dan ZERPH06 (B) dengan protein 2F6W.



Gambar 3. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH04 (A) dan ZERPH05 (B) dengan protein 2F6Y.



Gambar 4. Profil interaksi ligan-protein: ZERPH06 dan protein 2F6Y

Senyawa turunan zerumbon yang tersubstitusi gugus polar memiliki ikatan yang lebih baik daripada zerumbon. Nilai ikatan yang lebih baik ditunjukkan dengan nilai *Grid Score* semakin negatif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa gugus polar memberikan interaksi yang lebih menguntungkan. Gugus fungsi spesifik dapat berinteraksi dengan sifat hidrofilik sisi katalitik PTP1B (Zhao *et al.*, 2004).

IV. KESIMPULAN

Molekul ZERPH05 memiliki nilai *Grid Score* rendah terhadap protein target dibandingkan ligan lain. Ini berarti ZERPH05 memiliki prediksi aktivitas yang baik untuk protein target. PDB ID 2F6W dan 2F6Y memberikan nilai *Grid Score* rendah untuk semua ligan uji. Studi *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk mengkonfirmasi

aktivitas anti-diabetes dari ZERPH05. PDB ID yang lain dapat *docking* dengan aplikasi *docking* lain dan optimasi metode.

DAFTAR PUSTAKA

- Hardono, B.Y., Santoso, B. and Da'i, M., 2013, Analisis Molecular Docking Energi Ikatan Turunan Diketoperazin (DKP) Sebagai Inhibitor Histon Deasetilasi (HDACi), Thesis, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Kitayama, T., 2011, Attractive Reactivity of a Natural Product, Zerumbone, Biosci, Biotechnol. Biochem., 75 (2): 199-207.
- Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., Bajorath, J., 2004, Docking And Scoring In Virtual Screening For Drug Discovery: Methods And Applications, Nat Rev Drug Discov., 3 (11): 935-49
- Koren, S. and Fantus, I.G., 2007. Inhibition of The Protein Tyrosine Phosphatase PTP1B: Potential Therapy for Obesity, Insulin Resistance and Type-2 Diabetes Mellitus, Best Pract Res Clin Endocrinol Metab., 21(4): 621-40
- Montalibet, J. and Kennedy, B.P., 2005, Metabolic Syndromes: Therapeutic Strategies for Targeting PTP1B in Diabetes, Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2(2): 129–135
- Nadzri, N.M., Abdul, A.B., Sukari, M.A., Abdelwahab, S.I., Eid, E.E.M., Mohan, S., Anasamy, T., Ng, K., Syam, S., Arbab, I.A., Rahman, H.S., Ali, H.M., 2013, Inclusion Complex of Zerumbone with Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin Induces Apoptosis in Liver Hepatocellular HepG2 Cells via Caspase 8/BID Cleavage Switch and Modulating Bcl₂/Bax Ratio, Evid. Based Complement Alternat. Med., 2013: 810632
- Saifudin, A., Kadota, S. and Tezuka, Y., 2013, Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitory Activity of Indonesian Herbal Medicines and Constituents of *Cinnamomum burmannii* and *Zingiber aromaticum*, J. Natural Medicines, 67(2): 264-270
- Salentin, S., Schreiber, S., V. Joachim Haupt, V. J., Adasme, M. F. and Schroeder, M., 2015, PLIP: Fully Automated Protein-ligand Interaction Profiler, Nucl. Acids Res., 43(W1): W443-W447
- Santoso, B., Hanwar, D., Suhendi, A., Kusumowati, I.T.D., and Melannisa, R., 2014, Docking Molekular Terbalik dari Senyawa Zerumbone. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami [SPBOA] XVI & Muktamar XII PERHIPBA, 23-24 April 2014, 464-474

- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and Hillary, K., 2004. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030, *Diabetes Care*, 27(5): 1047-53 27.
- Tzeng, T., Liou, S., Chang, C.J., Liu, I., 2013, Zerumbone, a Natural Cyclic Sesquiterpene of *Zingiber zerumbet* Smith, Attenuates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Hamsters Fed on High-Fat Diet, *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2013: 303061
- Zhang, S., Liu, Q., Liu, Y., Qiao, H., Liu, Y., 2012, Zerumbone, a Southeast Asian Ginger Sesquiterpene, Induced Apoptosis of Pancreatic Carcinoma Cells through p53 Signaling Pathway, *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2012: 936030
- Zhao, H., Liu, G., Xin, Z., Serby, M.D., Pei, Z., Szczepankiewicz, B.G., Hajduk, P.J., Abad-zapatero, C., Hutchins, C.W., Lubben, T.H., Ballaron, S.J., Haasch, D.L., Kaszubska, W., Rondinone, C.M., Trevillyan, M., Jirousek, M.R., 2004, Isoxazole Carboxylic Acids as Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14(22): 5543-6.
- Zoete, V., Grosdidier, A. and Michielin, O., 2009. Docking, Virtual High Throughput Screening and in silico Fragment-based Drug Design, *J. Cell Mol. Med.*, 13(2): 238-48

SINTESIS SENYAWA 6-HIDROKSIMETIL-2,9,9-TRIMETILSIKLOUNDEKA-2,10-DIEN-1-ON DARI 6-ASETOKSIMETIL-2,9,9-TRIMETILSIKLOUNDEKA-2,6,10-TRIEN-1-ONE

Broto Santoso^{*}, Dhanita Fitriatiara, Dedi Hanwar, Muhammad Da'i, Andi Suhendi
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl A. Yani Tromol Pos I Pabelan Kartasura,
^{*}Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Zerumbon adalah senyawa alam kelompok seskuiterpen monosiklik yang diperoleh dari isolasi rimpang *Zingiber zerumbet* Smith. Kelarutan senyawa ini pada suhu 25°C adalah 1,296 mg/L dalam air yang praktis tidak larut. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan senyawa turunan yang dapat meningkatkan sifat fisik dan kimia dari senyawa induknya, zerumbon. Senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on merupakan salah satu senyawa turunan dari zerumbon yang disintesis dari hasil reaksi hidrolisis 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on menggunakan natrium hidroksida. Senyawa ini memperlihatkan nilai kelarutan yang masih rendah di dalam air (4,687 g/L) namun telah terjadi sedikit peningkatan dibandingkan dengan zerumbon. Produk akhir didapatkan rendemen sebesar 11,3% dan telah dikarakterisasi menggunakan spektrometri NMR.

Kata Kunci: *Zingiber zerumbet* Smith, zerumbon, 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on, 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on, NaOH

I. PENDAHULUAN

Obat dengan kelarutan dalam air yang rendah mempunyai kemampuan absorpsi dan transpor yang terbatas setelah pemberian oral karena rendahnya gradien konsentrasi antara usus dan pembuluh darah. Demikian juga ketika diberikan secara parenteral seperti mikrosuspensi. Kadar obat terapi tidak dapat dicapai dalam cairan tubuh karena konsentrasi zat terlarut yang terbatas. Metode baru perlu dikembangkan untuk meningkatkan kelarutan obat yang sukar larut dalam cairan tubuh (Rahman *et al.*, 2013).

Zerumbone is a natural product of sesquiterpen monocyclic group that was isolated from rhizomes of *Zingiber zerumbet* Smith. Zerumbone is the main compounds of *Zingiber zerumbet* Smith found in 1956 and determined its chemical structure in 1960 (Rahman *et al.*, 2014). LogP value of zerumbone is 4.75 (Kitayama *et al.*, 2013). Its

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

solubility at room temperature is 1.296 mg/L in water, which categorized as insoluble compound. Its extract had been determined as antidiabetic. Its solubility became a problem during the activity testing (Sakika *et al.*, 2014). Zerumbone and derivatives have been presented *in silico* method as active antidiabetic activity using DOCK6 (Santoso *et al.*, 2014).

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan untuk sintesis 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on adalah 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on, zerumbon yang diisolasi dari rimpang tanaman lempuyang gajah (*Z. zerumbet* Smith) dengan metode kromatografi kolom tekanan (Hanwar *et al.*, 2013), N-bromosuccinamide (NBS), asetonitril, natrium asetat, dimetilformamida (DMF), diklorometana (DCM), natrium sulfat (Na₂SO₄), natrium hidroksida (NaOH), dan dietileter.

B. Pembuatan *zerumbone-pondant*

Zerumbon *pondant* (a) disintesis dari N-bromosuccinamide (0,90 g; 5,0 mmol) dan zerumbon (1,0 g; 4,6 mmol) dalam asetonitril-air (1:1, 15 mL), diaduk selama 1 menit pada suhu kamar. Akuabides (30 mL) ditambahkan ke dalam campuran larutan, endapan dari zerumbon *pondant* dicuci dengan segera menggunakan air beberapa kali untuk mendapatkan senyawa 7-bromo-2,9,9-trimetil-6-metilenesiklo-undeka-2,10-dienon. Zerumbon dilarutkan dalam campuran asetonitril dan akuabides dengan perbandingan (1:1). N-bromosuccinamide dimasukkan dan diaduk selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 30 mL akuabides, campuran disentrifugasi menjadi 9 bagian (masing-masing @ 5 mL) selama 3 menit pada 1600 rpm. Endapan tersebut diambil dan dicuci menggunakan akuabides sebanyak 3 kali dengan volume masing-masing 5 mL.

C. Sintesis 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on

Sintesis senyawa 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on (b) dilakukan dengan menambahkan natrium asetat (82,8 mg; 1,0 mmol) dengan zerumbon *pondant* (0,2 g; 0,67 mmol) dalam 20 mL dimetilformamida pada suhu kamar dan diaduk selama 16 jam (semalam). Kemudian larutan tersebut diekstraksi menggunakan

diklorometana (3x30 mL) dan sisa air dihilangkan dengan penambahan Na₂SO₄. Sisa pelarut dihilangkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

D. Sintesis 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on

Sintesis senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on (c) dilakukan dengan penambahan natrium hidroksida (1,5 N; 60 mL) ke dalam larutan 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on (1,0 g; 3,6 mmol) dan diaduk selama 1 jam pada suhu kamar. Fase organik diekstraksi dengan dietileter (3x30 mL) dan sisa air dihilangkan dengan penambahan 100 mg natrium sulfat. Pelarut dihilangkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

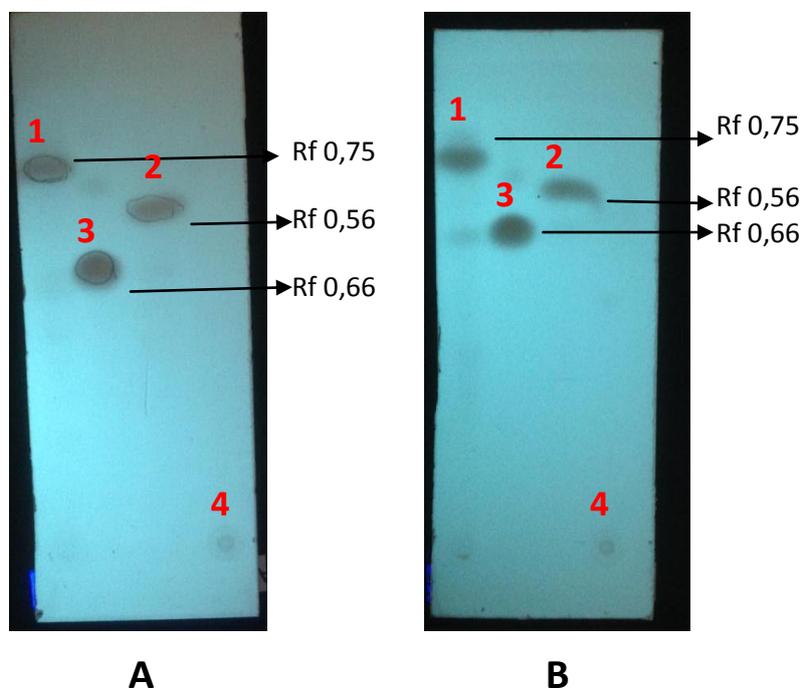
Senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on memiliki logP sebesar 3,68 sedangkan logP zerumbon yaitu 4,57 sehingga secara teoritis senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on memiliki kepolaran yang lebih besar daripada zerumbon. Hasil organoleptis senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on yang diperoleh berbentuk padatan, berwarna putih dan berbau lemah. Pada penelitian ini diperoleh rendemen sebesar 11,3%.

Analisis produk hasil sintesis untuk mengetahui profiling secara kualitatif dilakukan dengan KLT sistem terbalik. Fase diam yang digunakan adalah C18 dengan fase gerak metanol:air (9:1) dan metanol:etilasetat (9:1). Hasil kromatogram KLT ditunjukkan pada Gambar 1.

Kromatogram hasil menunjukkan elusi hasil yang berbeda dengan *starting material*. Hal tersebut ditampakan dari nilai *R_f* yang berbeda. Senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on memiliki polaritas yang lebih besar dibandingkan dengan senyawa induknya. Kemurnian dari hasil sintesis secara kualitatif terlihat bahwa senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on hanya terdapat satu bercak elusi, akan tetapi kemurniannya belum dapat dikonfirmasi.

Hasil uji kelarutan senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on menunjukkan bahwa 4.687,5 mg produk larut dalam 1 L air. Dari hasil tersebut, senyawa ini masih dikategorikan sukar larut dalam air. Akan tetapi, telah terjadi peningkatan kelarutan sebanyak 3617 kali lebih baik dari zerumbon. Data NMR dapat ditampilkan sebagai ¹H NMR (400 MHz, ppm, CDCl₃): δ 9,4204; 6,7031; 5,9684; *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

5,0959; 4,7407; 4,5058; 3,9697; 3,7249; 3,4286; 2,5534; 2,5352; 2,3331; 2,0274; 1,682; 1,215; 1,012; 0,8405 dan ^{13}C NMR (101 MHz, ppm, CDCl_3): 201,555; 155,219; 136,112; 126,421; 119,599; 93,548; 65,038; 39,692; 39,381; 37,302; 33,265; 32,908; 31,102; 29,638; 26,192; 26,101; 8,109.



Gambar 1. Kromatogram KLT hasil sintesis dengan fase gerak untuk bagian **A**: metanol-air (9:1) dan **B**: metanol-etil asetat (9:1). Senyawa **1** adalah 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on, **2**: 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on, **3**: zerumbon dan **4**: masih tidak diketahui.

Spektra ^{13}C -NMR memberikan hasil yang sangat mirip dengan kajian prediksi spektra ^1H NMR dari senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloundeka-2,10-dien-1-on dengan tidak adanya ikatan rangkap pada C_6 - C_7 . Pelarut CDCl_3 ditunjukkan pada puncak sangat kuat pada geseran 76,68-77,32 ppm. Namun spektra masih memberikan beberapa puncak yang tidak diketahui (*ghost peak*) dan terjadi pergeseran dari prediksi puncak yang ada. Adanya permasalahan ini menjadikan perlu dilakukan optimasi metode agar di dapatkan hasil sintesis yang diharapkan.

IV. KESIMPULAN

Sintesis senyawa 6-hidroksimetil-2,9,9-trimetilsikloun-deka-2,6,10-trienon didapatkan dengan mereaksikan senyawa 6-asetoksimetil-2,9,9-trimetilsikloun-deka-2,6,10-trienon dengan NaOH melalui reaksi hidrolisis. Hasil sintesis diperoleh rendemen sebesar 11,3% dengan kelarutan 4687,5 mg dalam 1 L air yang termasuk dalam kategori sukar larut. Hal ini telah dapat menaikkan nilai kelarutan senyawa turunan zerumbon menjadi 3617 kali lebih baik dari zerumbon. Uji karakterisasi dengan menggunakan NMR diperoleh hasil bahwa senyawa produk tidak mempunyai ikatan rangkap pada C₆-C₇ berbeda dengan zerumbon. Perlu dilakukan optimasi metode dan ketelitian dalam proses sintesis agar didapatkan hasil yang diharapkan.

DAFTAR PUSTAKA

- H. S., Rahman, A., Rasedee, C. W., How, Abdul, A. B., Allaudin, N. A., Othman, H. H., Saeed, M. I., & Yeap, S. K., 2013. Zerumbone-Loaded Nanostructured Lipid Carriers: Preparation, Characterization, and Antileukemic Effect, *International J. Nanomedicine*, 8: 2769–2781
- Hanwar, D., Suhendi, A., Santoso, B., Kusumowati, I. T. D., & Melannisa, R., 2013. Isolation and Purification of Chemical Marker from *Zingiber zerumbet* Rhizome from Indonesia, *The Open Conference Proceedings Journal*, 4: 95
- Kitayama, T., Nakahira, M., Yamasaki, K., Inoue, H., Imada, C., Yonekura, Y., *et al.*, 2013, Novel Synthesis of Zerumbone-Pendant Derivatives and Their Biological Activity, *Tetrahedron*, 69: 10152-10160
- Sakika, K.A., Hanwar, D., Suhendi, A., Kusumowati, I.T.D., & Santoso, B., 2014, Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Emprit (*Zingiber Amaranicus* Bl) pada Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan. Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terbaru Pemanfaatan Herbal sebagai Agen Preventif pada Terapi Kanker, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, September 2014, 5-9
- Santoso, B., Hanwar, D., Suhendi, A., Kusumowati, I.T.D., & Melannisa, R., 2014, Docking Molekular Terbalik dari Senyawa Zerumbon. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami [SPBOA] XVI & Muktamar XII PERHIPBA, 23-24 April 2014, 464-474

OPTIMASI KOMPOSISI POLIMER DALAM TABLET PRORANOLOL HIDROKLORIDA SISTEM MENGAPUNG DAN LEKAT MUKOSA

Lusia Oktora Ruma Kumala Sari, Siska Martin, Eka Deddy Irawan
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
E-mail: oktorarks@gmail.com

Abstrak

Kombinasi penghantaran obat sistem mengapung dan lekat mukosa pada tablet Proranolol Hidroklorida diteliti untuk meningkatkan ketersediaan hayatinya dengan meningkatkan waktu transit obat pada saluran pencernaan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengoptimasi dan menentukan komposisi optimal dari Hidroksipropil Metilselulosa (HPMC), Natrium Alginat dan Natrium Karboksimetilselulosa (CMC Na) pada tablet Proranolol Hidroklorida pelepasan terkontrol kombinasi sistem mengapung dan lekat mukosa. Tablet dibuat secara cetak langsung. Optimasi dilakukan dengan metode *simplex lattice design* (SLD). Tablet dievaluasi kemampuan mengapung, mengembang dan lekat mukosa. Kemampuan mengapung dan lekat mukosa digunakan sebagai parameter optimasi pada perhitungan model SLD. HPMC, Natrium Alginat dan CMC Na dapat meningkatkan kemampuan mengapung dan lekat mukosa. Komposisi optimum dari HPMC (83,673 mg), Natrium Alginat (46,327 mg) dan CMC Na (30mg) ditentukan berdasarkan *superimposed contour plot*.

Kata Kunci: tablet, mengapung-lekat mukosa, proranolol HCl, HPMC, natrium alginat dan CMC Na.

I. PENDAHULUAN

Modifikasi sistem pelepasan obat saat ini sering diperbincangkan di antaranya *gastroretentive drug delivery system* (GRDDS). GRDDS ini dapat dicapai melalui beberapa cara di antaranya dengan sistem mengapung dan lekat mukosa. Sistem *floating* dan sistem *mucoadhesive* tersebut memiliki keterbatasan. Bentuk sediaan mengapung dimaksudkan untuk tetap mengapung pada cairan lambung ketika perut penuh setelah makan. Saat perut kosong dan tablet mencapai pilorus, daya apung sediaan akan berkurang sehingga sediaan dapat melewati pilorus keluar ke usus kecil. Sediaan juga dapat lepas dari dinding mukosa lambung dalam sistem penghantaran obat *mucoadhesive* karena adanya gerakan peristaltik lambung. Kombinasi sistem *floating-mucoadhesive* dapat mengatasi kelemahan-kelemahan ini dan meningkatkan efek terapi dari obat secara signifikan (Sonar *et al.*, 2007).

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

Model obat yang digunakan adalah propranolol hidroklorida (propranolol HCl). Alasan pemilihan propranolol HCl dalam pengembangan sediaan dengan sistem kombinasi *floating-mucoadhesive* ini karena absorpsinya komplis di saluran pencernaan atas (Martindale, 2009), mempunyai waktu paruh eliminasi pendek sekitar 3-6 jam, bioavailabilitas mencapai 30% (Porwal *et al.*, 2011) sehingga menguntungkan untuk diformulasikan menjadi sediaan lepas lambat kombinasi sistem mengapung-*mucoadhesive*.

HPMC sangat tahan terhadap perubahan pH atau kandungan ionik dari media disolusi, ekonomis, tidak toksik, mudah digunakan, dan saat kontak dengan cairan terhidrasi menjadi bentuk lapisan gel kental dimana obat akan dilepaskan dengan difusi dan erosi (Lachman *et al.*, 1994). CMC Na memiliki kekuatan *mucoadhesive* yang lebih bagus dibandingkan HPMC (El-Kamel *et al.*, 2002). Natrium alginat juga digunakan dalam pembuatan formulasi oral dengan pelepasan diperpanjang (sediaan lepas lambat) karena Natrium alginat dapat menunda atau memperlambat disolusi suatu obat dari tablet, kapsul dan suspensi (Rowe *et al.*, 2009).

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah propranolol HCl (PT Dexa Medica), natrium alginat (Shadong Bio-Technologi), CMC Na (Brataco Chemika), HPMC K4M (Color Con Asia Pacific Pre. Ltd), asam sitrat (Brataco Chemika), NaHCO₃ (Brataco Chemika), magnesium stearat (Brataco Chemika), avicel (Brataco Chemika), kalium klorida, metanol, asam klorida, aqua destilata dan lambung kelinci (jenis lokal Jember, usia 7-8 bulan, dan BB 1-2 kg).

B. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat uji disolusi (jenis dayung *Pharmeq*), spektrofotometer (*Genesys 10S UV-Vis*), mesin cetak tablet (*single punch Healthy*), perangkat lunak (*software*) *Sigma plot 11.0* dan *Design Expert 8.0.6* sebagai program pengolahan data.

C. Pembuatan Tablet Propranolol HCl

Pembuatan tablet propranolol HCl dalam penelitian ini dilakukan dengan metode cetak langsung, proses pembuatannya adalah sebagai berikut: propranolol HCl, HPMC
*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

K4M, natrium alginat, CMC Na, avicel, Na bikarbonat dan asam sitrat dicampur selama 10 menit. Campuran serbuk ditambah Mg stearat dan dicampur selama 5 menit. Campuran serbuk dikompresi menjadi tablet

Tabel 1. Susunan formula

Bahan (mg)	Percobaan						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Propranolol HCl	80	80	80	80	80	80	80
HPMC K4M	120	20	20	70	20	70	53,33
Natrium alginat	20	120	20	70	70	20	53,33
CMC Na	20	20	120	20	70	70	53,33
Na bikarbonat	42	42	42	42	42	42	42
Asam sitrat	10	10	10	10	10	10	10
Avicel	100	100	100	100	100	100	100
Mg stearat	8	8	8	8	8	8	8
Berat tablet (mg)	400	400	400	400	400	400	400

D. Evaluasi Tablet

1) Kemampuan mengapung

Tablet dimasukkan ke dalam gelas beaker yang di dalamnya terdapat larutan dapar HCl pH 1,2 sebanyak 100 ml. Kemampuan mengapung ditentukan berdasarkan waktu tablet untuk dapat naik sampai permukaan dan mengapung. *Floating lag time* tablet Propranolol HCl dikehendaki antara 20-600 detik dan *floating duration time* tidak kurang dari 12 jam agar dapat memperlama waktu tinggal dalam lambung (Rosa *et al.*, 1994).

2) Kemampuan lekat mukosa

Tablet diletakkan di atas jaringan lambung kelinci dan diberi beban 5 gram selama 10 menit. Tablet lalu ditarik dengan beban yang ditambahkan secara bertahap selama 5 detik. Kekuatan *mucoadhesive* diukur dengan menentukan seberapa besar beban yang mampu ditahan oleh tablet sampai terlepas dari lambung (Rajput *et al.*, 2010)

E. Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan dengan menggunakan *software Desain Expert 8.0.6* versi trial.

Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kemampuan Mengapung

Sistem mengapung yang dibentuk oleh ketujuh formula adalah sistem *effervescent*. Tabel 2 merupakan hasil pengujian kemampuan mengapung.

Tabel 2. Hasil evaluasi kemampuan mengapung dari masing-masing formula

Formula	<i>Floating lag time</i> (detik) ± SD	<i>Floating duration time</i> (jam) ± SD
1	33,00 ± 2,00	> 12 ± 0
2	132,67 ± 1,53	1 ± 0
3	123,00 ± 1,00	0,5 ± 0
4	23,33 ± 2,52	> 12 ± 0
5	80,00 ± 2,00	1,5 ± 0
6	71,00 ± 3,61	> 12 ± 0
7	47,33 ± 2,52	8 ± 0

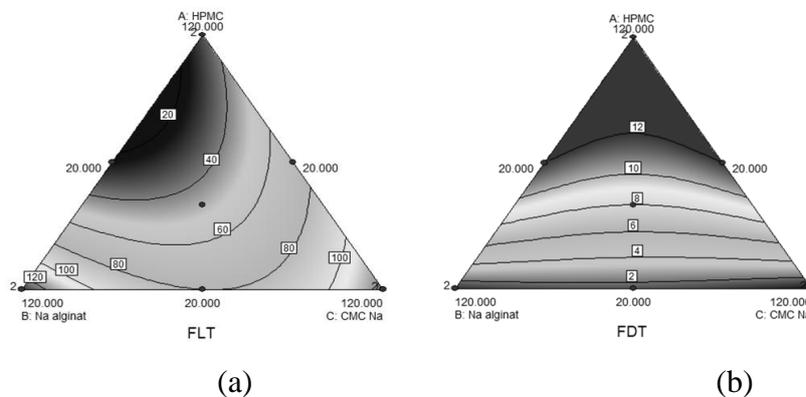
Data hasil pengujian kemampuan mengapung pada Tabel 2 dianalisis dengan menggunakan *software Design Expert 8.0.6* dan didapatkan persamaan dan gambar *contour plot* berikut:

a. *Floating lag time* (FLT)

$$Y = 33,00 \cdot A + 132,67 \cdot B + 123,00 \cdot C - 238,000 \cdot A \cdot B - 28,00 \cdot A \cdot C - 191,33 \cdot B \cdot C + 52,00 \cdot A \cdot B \cdot C$$

b. *Floating duration time* (FDT)

$$Y = +12,00 \cdot A + 1,00 \cdot B + 0,50 \cdot C + 22,00 \cdot A \cdot B + 23,00 \cdot A \cdot C + 3,00 \cdot B \cdot C - 49,50 \cdot A \cdot B \cdot C$$



Gambar 1. Contour plot (a) *floating lag time*, (b) *floating duration time*

Formula yang FDT-nya tidak mencapai 12 jam adalah formula 2, 3 5 dan 7. Keempatnya adalah formula yang mengandung Na Alginat dan CMC Na dengan jumlah yang besar. Kedua bahan tersebut membuat lapisan luar sediaan mengalami erosi yang besar dan cepat sehingga membuat FDT sediaan singkat yaitu dalam jangka waktu kurang dari 2 jam (Lachman *et al.*, 1994).

B. Kemampuan Lekat Mukosa

Formula 7 memiliki kekuatan *mucoadhesive* paling besar karena adanya kumulatif gaya ikatan baik dari gaya ikatan antara HPMC dengan mukus, gaya ikatan Na Alginat dengan mukus, ataupun gaya ikatan CMC Na dengan mukus. Hasil Interaksi antara polimer Na Alginat yang bersifat ionik (anionik) dan HPMC yang bersifat non-ionik dapat meningkatkan kekuatan lekat mukosa (Jogthong *et al.*, 2012). Na alginat memiliki gugus hidroksil yang banyak sehingga dapat mengikat kuat dengan rantai oligosakarida pada *mucin* (El-Gindy, 2004). Na Alginat cepat mengembang dan memfasilitasi interaksi merekatkan alginat dengan mukosa dan berkontribusi terhadap pembentukan lapisan kohesif yang lebih luas sehingga tingkat retensi mukosa maksimal (Shaikh *et al.*, 2012). CMC Na juga merupakan polimer yang bersifat *mucoadhesive* karena CMC Na memiliki gugus -COOH dan -OH sehingga bisa membentuk ikatan hidrogen dengan asam sialat, rantai oligosakarida atau pada protein dari *mucin*(Indrawati *et al.*, 2005).

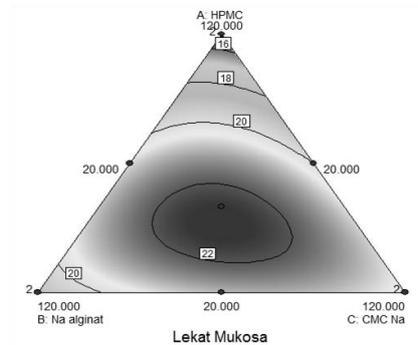
Tabel 3. Hasil evaluasi kekuatan *mucoadhesive*

Formula	Kekuatan <i>Mucoadhesive</i> (g) ± SD
1	15,00 ± 1,00
2	19,00 ± 1,00
3	20,33 ± 1,53
4	20,67 ± 0,58
5	21,00 ± 1,00
6	20,00 ± 1,00
7	22,33 ± 1,16

Data hasil pengujian kemampuan mengapung pada Tabel 3 dianalisis dengan menggunakan *software Desaign Expert* 8.0.6 dan didapatkan persamaan dan gambar *countor plot* berikut:

Kekuatan lekat mukosa

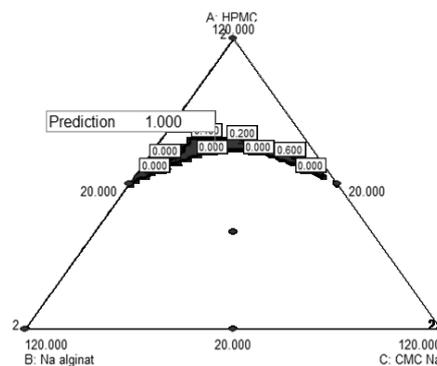
$$Y = 15,00 * A + 19,00 * B + 20,33 * C + 14,67 * A * B + 9,33 * A * C + 5,33 * B * C + 25,99 * A * B * C$$



Gambar 2. Contour plot kekuatan lekat mukosa

C. Hasil Analisis dan Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan dengan menggabungkan keempat *countor plot* menjadi *contour plot super imposed* yang ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Contour plot super imposed

Salah satu formula optimum yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki komposisi HPMC K4M 83,67 mg, Na Alginat 46,33 mg dan CMC Na 30,00 mg.

IV. KESIMPULAN

HPMC, Natrium Alginat dan CMC Na dapat meningkatkan kemampuan mengapung dan lekat mukosa. Komposisi optimum dari HPMC (83,673 mg), Natrium Alginat (46,327 mg) dan CMC Na (30mg) ditentukan berdasarkan *superimposedcountour plot*.

DAFTAR PUSTAKA

- El-Gindy, G. A., 2004, Formulation Development and In-Vivo Evaluation of Buccoadhesive Tablets of Verapamil Hydrochloride, *Bull Pharm Sci*, 27: 293-306
- El-Kamel A. H., Sokar, M. S., Naggar, V. F., & Al Gamal, S. S., 2002, Bioadhesive Controlled Release Metronidazole Vaginal Tablets, *Acta Pharm*,52: 171–179.
- Indrawati, T., Agoes, G., Yulinah, E., & Cahyati, Y., 2005, Uji Daya Lekat Mukoadhesif secara In Vitro beberapa Eksipien Polimer Tunggal dan Kombinasinya pada Lambung dan Usus Tikus, *Jurnal Matematika dan Sains*,10(2): 45-51
- Jogthong, Sakloetsakun, & Preechagoon, 2012, The Study of Mucoadhesive Properties of the Direct Compressed Combined Polymers for Oral Administration, The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012 Pharmacy Profession in Harmony
- Lachman, L., Lieberman, H. A., & Kanig, J. L., 1994, Teori dan Praktek Farmasi Industri Edisi Ketiga, Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Martindale, 2009, The Complete Drug Reference Thirty Sixth Edition, London: Pharmaceutical Press
- Porwal, A., Swarni, G., & Saraf. S. A., 2011, Preparation and Evaluation of Sustained Release Microballoons of Propranolol, *DARU*, 19(3): 193-201
- Rajput, G. C., Majmudar, Dr. F. D., Patel, Dr. J. K., Patel, K. N., Thakor, R. S., Patel, B. P., & N. B. Rajgor. 2010. Stomach Specific Mucoadhesive Tablets as Controlled Drug Delivery System – a Review Work, *Int. J. Pharm. Bio. Res*, 1(1): 30-41
- Rosa, M., Zia, H., & Rodhes, T., 1994, Dosing and Testing In-vitro of A Bioadhesive and Floating Drug Delivery System for Oral Application, *Intl. J. Pharm*,105: 65-70
- Rowe, R. C., 2009, Handbook Of Pharmaceuticall Exipients 6th edition, Pharmaceutical Press and American Pharmaceutical Association
- Shaikh, Pawar, & Kumbhar, 2012, Effect of Chitosan and Sodium Alginate on Mucoadhesion and Drug Release of Itraconazol Tablets, *Int. J. Res. Pharmaceutical and Biomedical Sci*, 3(1): 293-297
- Sonar, G. S., Jain, K. D., M., & More, D. M., 2007, Preparation and in Vitro Evaluation of Bilayer and Floating-Bioadhesive Tablets of Rosiglitazone Maleate, *Asian J. Pharm. Sci.*, 2 (4): 161-169

*Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development
Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*