P-ISSN 2527-6328
E-ISSN 2549-3558

JOURNAL

JOURNAL OF PHARMACY AND SCIENCE

JOURNAL PHARMASCI

VOLUME 7, NOMOR 1, JANUARI 2022

Vol. 7 No. 1 Januari 2022
Journal Pharmasci
(Journal of Pharmacy and Science)
P-ISSN : 2527-6328
E-ISSN : 2549-3558

Journal Pharmasci

(Journal of Pharmacy and Science)

ALAMAT REDAKSI :

AKADEMI FARMASI SURABAYA
Jl. Ketintang Madya No. 81 Surabaya

email : pharmasci@akfarsurabaya.ac.id
URL : ejournal.akfarsurabaya.ac.id

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)

Jurnal Ilmiah Ilmu Farmasi dan Sains (Kimia, Biologi, Fisika)

Volume 7, Nomor 1, Januari 2022

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science) yang diterbitkan sejak 2016 berisi kumpulan artikel yang telah ditelaah dari hasil penelitian dan studi kepustakaan berbasis pengetahuan dan terkait dengan bidang farmasi, biologi, kimia, dan kesehatan. Artikel berasal dari penulis yang berafiliasi dengan perguruan tinggi, badan penelitian dan pengembangan, lembaga penelitian non-departemen (LPND) atau lembaga lain yang memiliki aktifitas dalam riset, ilmu pengetahuan dan teknologi. Setiap naskah yang diterima redaksi Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science) akan ditelaah oleh penelaah ahli dan anggota redaksi. Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science) terbit 2 kali dalam setahun, pada bulan Juli dan Januari.

Alamat Redaksi:
AKADEMI FARMASI SURABAYA
Jl. Ketintang Madya 81 Surabaya Telp. (031) 828 0996
Email: pharmasci@akfarsurabaya.ac.id .
Kesalahan penulisan (isi) diluar tanggung jawab percetakan

Halaman Kosong

DEWAN REDAKSI VOLUME 7 NOMOR 1

Penanggung Jawab	:	Ninik Mas Ulfa, S.Si., Apt., Sp.FRS.
Ketua Penyunting	:	Ilil Maidatuz Zulfa, S.Farm., M.Si., Apt.
Anggota Penyunting	:	Rahmad Aji Prasetya, S.Farm., Apt., M.Sc. Widya Handayani, M.Farm.Klin., Apt. Surahmaida, S.Si., M.T. Sofia Fatmawati, S.Farm., M.Si., Apt.
Kesekretariatan	:	Alfian Aldianto, S.IIP.
Penelaah Ahli	:	Hilya Nur Imtihani, M.Farm., Apt. *(Akademi Farmasi Surabaya)* Ratih Kusuma Wardani, S.Si., M.Si. *(Akademi Farmasi Surabaya)* Umarudin, S.Si., M.Si. *(Akademi Farmasi Surabaya)* Tri Puji Lestari Sudarwati, S.Si., M.Si. *(Akademi Farmasi Surabaya)* Iin Ernawati, M.Farm.Klin., Apt. *(Akademi Farmasi Surabaya)* Romadhiyana Kisno Saputri, S.Gz., M.Biomed. *(Universitas Sunan Giri Bojonegoro)*
	:	

Halaman Kosong

DAFTAR ISI

Journal of Pharmacy and Science iii

DEWAN REDAKSI VOLUME 7 NOMOR 1 v

DAFTAR ISI vii

Uji Sensitivitas Antibakteri Sediaan Injeksi *Ceftriaxone* Generik terhadap *Salmonella typhi* 9

Emma Susanti[1*)], Leony Liza Andriani[1], Musyrina Rahmah[1] 9

Formulasi Serbuk Instan Kombinasi Bawang Lanang Hitam (*Allium sativum* L.) dan Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Metode *Foam Mat Drying* 15

Alfian Hendra Krisnawan[1*)], Asti Gusni Dharmawati[1], Husin Rayesh Mallaleng[1] 15

Pemetaan Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kayu Secang (*Caesalpinia sappan)* Secara *In Silico* 21

Dewi Ratih Tirto Sari[1,2*)], Gabriella Chandrakirana Krisnamurti[3], Yohanes Bare[4] 21

Kemampuan Lidah Buaya Sebagai Pereduksi Kandungan Formalin pada Daging Ayam Kampung Berformalin 29

Cicik Herlina Yulianti[1*)], Surahmaida[1] 29

Efek Penurunan Ekspresi MHCII Pada Sel Mikroglia HMC3 Teraktivasi M_1 *Polarity* Oleh Fraksi *n*-Heksana dan Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) 35

Burhan Ma'arif[1*)], Faisal Akhmal Muslikh[2], Abdul Malik Guhir[1], Hilwa Fitri[1], Luqman Alfani Najib[1], Novyananda Salmasfattah[1], Hening Laswati[3], Mangestuti Agil[4] 35

Pengaruh Formulasi Nano Ekstrakterhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) Ungu Varietas Antin-3 43

Galuh Gondo Kusumo[1*)], Damaranie Dipahayu[2] 43

Efektivitas Azitromisin Sebagai Terapi Covid-19 49

Nurul Hidayah[1*)], Denova Haryavany[1] 49

Halaman Kosong

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 7, No 1, (Januari 2022), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Penelitian

Uji Sensitivitas Antibakteri Sediaan Injeksi *Ceftriaxone* Generik terhadap *Salmonella typhi*

Emma Susanti[1*)], Leony Liza Andriani[1], Musyrina Rahmah[1]
[1]Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; Jl. Bangau Sakti No 90, Simpang Baru, Tampan. Pekanbaru
[*)] E-mail: (emmasusanti@stifar-riau.ac.id.)

ABSTRAK

Penelitian uji sensitivitas antibakteri beberapa sediaan injeksi *ceftriaxone* generik terhadap *Salmonella typhi* telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas antibakteri beberapa sediaan injeksi *ceftriaxone* generik terhadap *Salmonella typhi* dengan menggunakan metode difusi Agar, dengan 3 sampel diambil dari 3 produsen yang berbeda di Rumah Sakit S Pekanbaru. Hasil diameter zona hambat yang diperoleh Produk P adalah 27,76 mm, Produk Q adalah 28,83 mm, dan Produk R adalah 29,96 mm. Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan disk *ceftriaxone* 30 µg diameter zona hambat didapatkan 18,1 mm dan kertas cakram yang diteteskan aquadest steril. Hal ini disebabkan oleh jumlah zat uji injeksi *ceftriaxone* dalam disk lebih besar dari kadar *ceftriaxone* kontrol positif. Pada sampel uji terdapat 1000 µg/disk sedangkan kontrol positif terdapat 30µg/disk, artinya jumlah zat uji *ceftriaxone* 33,3 kali lebih besar dari pada kontrol positif. Hasil pengujian menunjukkan bahwa Injeksi *ceftriaxone* memiliki daya hambat dengan kategori kuat berdasarkan *Clinical Laboratory Standards Institute* (2017), dan kontrol positif dengan menggunakan disk *ceftriaxone* 30 µg menunjukan daya hambat dengan kategori sedang.

Kata kunci: antibakteri, *ceftriaxone*, *Salmonella typhi*.

Antibacterial Sensitivity Test of Generic Ceftriaxone Injection Against *Salmonella typhi*

ABSTRACT

Research on antibacterial sensitivity test of several generic *ceftriaxone* injection preparations against *Salmonella typhi* have been conducted. The purpose of this study was to determine the antibacterial sensitivity of several generic *ceftriaxone* injection preparations against *Salmonella typhi* using the Agar diffusion method, with 3 samples taken from 3 different manufacturers in hospital S Pekanbaru. The result of inhibition zone diameter obtained by product P is 27,76 mm, product Q is 28,83 mm, and the product R is 29,96 mm. Positive control and negative control used *ceftriaxone* disc 30 µg the inhibition zone diameter was obtained 18,1 mm and the disc paper was dripped with sterile aquadest. This is because the amount of *ceftriaxone* injection test substance in the disk is greater than the positive control *ceftriaxone* level. In the test sample there are 1000 µg/disc while the positive control had 30 µg/disc, it means that the number of *Ceftriaxone* test substances was 33,3 time greater than the positive control. The test results show that *ceftriaxone* injection has an inhibitory power with a strong category based on the *Clinical Laboratory Standards Institute* (2017), and positive control using *ceftriaxone* 30 µg disc showed moderate inhibition.

Keywords: antibacterial, *ceftriaxone*, *Salmonella typhi.*

1. PENDAHULUAN

Salmonella adalah bakteri Gram negatif dan terdiri dari famili Enterobacteriacea. Salmonella merupakan bakteri patogenik enterik dan penyebab utama penyakit bawaan dari makanan (foodborne disease). Antigen salmonella terdiri dari tiga yakni antigen terluar O, flagella H dan kapsul Vi (virulensi). Terdapat lebih dari 2500 serotipe salmonella yang dapat menginfeksi manusia. Namun serotipe yang sering menjadi penyebab utama infeksi pada manusia adalah Salmonella paratyphi A, Salmonella paratyphi B, Salmonella paratyphi C, Salmonella cholerasius, Salmonella typhi [1]. Penyakit ini berkembang selama satu sampai dua minggu setelah seorang pasien terinfeksi oleh bakteri tersebut. Gejala lainnya adalah sakit kepala, nyeri otot, mual, muntah [2].

WHO menyatakan penyakit demam tipoid di dunia mencapai 11-20 juta kasus per tahun yang mengakibatkan sekitar 128.000-161.000 kematian setiap tahunnya [3]. Di Indonesia tahun 2018 prevalensi diare yang merupakan salah satu gejala dari demam tipoid berdasarkan diagnosis adalah

6,8%[4]. Ini menunjukkan peningkatan data pravelensi dari tahun 2013 yang mencapai 4,5%[5]. Pemberian antibiotik yang tepat pada pasien demam tifoid sangat penting, karena dapat mencegah komplikasi dan mengurangi angka kematian[6]. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan peningkatan bakteri yang resisten terhadap antibiotik seperti Kloramfenikol, amoksisilin, siprofloksasin, dan kotrimoksazol. Untuk mengatasi hal itu maka para dokter memberikan antibiotik sefalosporin generasi ketiga untuk memastikan hasil pengobatan yang lebih baik [7]. Pada Pengobatan demam tipoid Menurut Depkes RI (2006) lini pertama adalah Kloramfenikol, Ampisilin atau *Amoxicillin*, Trimetroprim-Sulfametoksazol. Sedangkan pada Lini Kedua adalah *Ceftriaxone*, *Cefixime*, Quinolone[8]. Salah satunya obat antibiotik penyakit tipoid yang efektif adalah *Ceftriaxone*. *Ceftriaxone* merupakan antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga, yang merupakan spektrum luas untuk infeksi bakteri Gram positif dan Gram negatif serta bakteri anaerob[9]. *Ceftriaxone* hanya mempunyai satu sediaan saja yaitu injeksi. Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat sintesis mukopeptida yang diperlukan untuk pembentukan dinding sel bakteri, yaitu menghambat reaksi transpeptidase tahap ketiga dalam rangkaian reaksi pembentukan dinding sel [10].

Sifat-sifat *Ceftriaxone* yaitu serbuk hablur, putih hingga jingga kekuningan dengan rumus molekul *Ceftriaxone* : $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3.3{,}5\ H_2O$ [11]. Berat molekul (BM) *Ceftriaxone* adalah 661,60 dengan kelarutan mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam metanol, sangat sukar larut dalam etanol. Dosis *Ceftriaxone* injeksi untuk dewasa: (2-4) gr/hr selama 3-5 hari, untuk anak-anak: 80 mg/Kg BB/hr dosis tunggal selama 5 hari [8].

2.METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Thermo®), timbangan analitik digital (Shimadzu®), autoklaf (GEA®), oven (Memmert®), inkubator (Memmert®), *hotplate*, lemari pendingin, *beaker glass*, erlenmeyer, mikro pipet, batang pengaduk, cawan Petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, masker, *handscoon*, benang jagung, lampu spritus, jarum Ose, pinset, kertas label, kertas cakram *whatman* 42, kasa steril, kapas, jangka sorong, *alumunium foil*, kertas *wrap*, spuit 10 cc dan *tissue*.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik injeksi *Cefriaxone* generik dengan kandungan zat aktif 1 gram/ vial., Kontrol Positif disk *Ceftriaxone* 30µg, bakteri *Salmonella typhi*, media *Nutrien* Agar (GranuCult ®), Aqua Pro Injeksi, aquadest, dan NaCl fisiologis.

2.3 Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini digunakan 3 sampel Injeksi *Ceftriaxone* Generik dengan kandungan zat aktif 1 gram /vial, yang didapatkan di salah satu Rumah Sakit di Pekanbaru, yaitu di Rumah Sakit S dengan cara membuat surat pernyataan untuk mendapatkan injeksi *Ceftriaxone* generik. Kontrol positif disk *Ceftriaxone* 30 µg didapatkan di Labkesda. Sampel yang diambil adalah injeksi ceftriaxone merk P, Q dan R.

2.4 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan disterilkan yaitu tabung reaksi, erlenmeyer, cawan Petri, dan *beaker glass* dicuci bersih dan dikeringkan, untuk kertas cakram dimasukkan kedalam vial. Selanjutnya dibungkus dengan kertas koran lalu diikat dengan benang jagung, disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 160 °C selama 2 jam. Media *Nutrien* Agar (NA), disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Jarum Ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran langsung diatas nyala api bunsen setiap kali pemakaian

2.5 Pembuatan Media Nutrien Agar

5 gram sebuk *Nutrien* Agar (NA), dilarutkan dengan 250 ml aquades kemudian dipanaskan diatas *hotplate* sambil diaduk-aduk hingga larut dan berwarna kuning bening dan mendidih. Setelah mendidih lalu didinginkan beberapa menit, lalu ditutup menggunakan kapas yang dibalut dengan kain kasa lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit tekanan 1 atm.

2.6 Peremajaan Bakteri Salmonella typhi

Media *Nutrien* Agar (NA) dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dimiringkan sehingga terbentuk media Agar miring, dibiarkan mengeras lalu ditambahkan satu atau dua Ose bakteri tersebut menggunakan jarum Ose steril dan digoreskan. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Disimpan kedalam lemari pendingin dengan suhu 4ºC sebagai stok bakteri

2.7 Pembuatan Suspensi Bakteri Salmonella typhi

NaCl fisiologis 0,9 % b/v diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 6 ml. Bakteri uji sebanyak 4 Ose dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi NaCl Fisiologis 0,9% b/v. Aduk sampai homogen, kekeruhan diukur pada transmittan 25% dengan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang (λ) 580 nm.

2.8 Penyiapan sampel uji larutan injeksi Ceftriaxone

1 gram serbuk sampel uji antibiotic *Ceftriaxone injeksi* dilarutkan terlebih dahulu dengan *aqua pro injeksi* 10 ml. Lalu dihomogenkan sampai partikel nya larut dan terbentuk warna kuning bening. Untuk Kontrol positif digunakan disk Ceftriaxone 30µg/ disk. Untuk kontrol negative digunakan aquadest steril yang diteteskan 10µl / disk.

2.9 Uji Sensitivitas Antibakteri Sediaan Injeksi Ceftriaxone Generik Terhadap Salmonella typhi

0,3 ml suspensi bakteri di pipet dan dimasukkan ke dalam cawan Petri, kemudian masukkan media *Nutrien* Agar (NA) 10-15 ml lalu dihomogenkan dan didiamkan hingga memadat. Kertas cakram steril yang telah diteteskan antibiotik injeksi seftriaxone sebanyak 10 µl dan dibiarkan mengering, dimasukkan ke dalam media yang telah memadat. Disk *ceftriaxone* 30 µg dimasukkan kedalam cawan Petri sebagai kontrol positif, kontrol negatif digunakan aquadest steril diteteskan sebanyak 10 µl di atas kertas cakram steril. Cawan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 ^{o}C dengan membalikkan cawan Petri tersebut. Amati zona hambat yang dihasilkan pada sekitar kertas cakram dan ukur diameter hambatnya menggunakan jangka sorong pada masing-masing antibiotik. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali.

2.10 Analisis Data

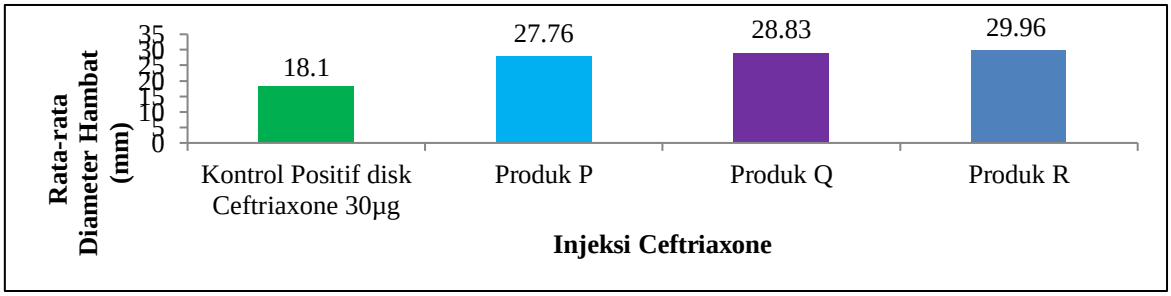
Data yang diperoleh adalah daerah zona hambat yang terjadi pada difusi antibiotik disekeliling cakram. Data dianalisa secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar.*t*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

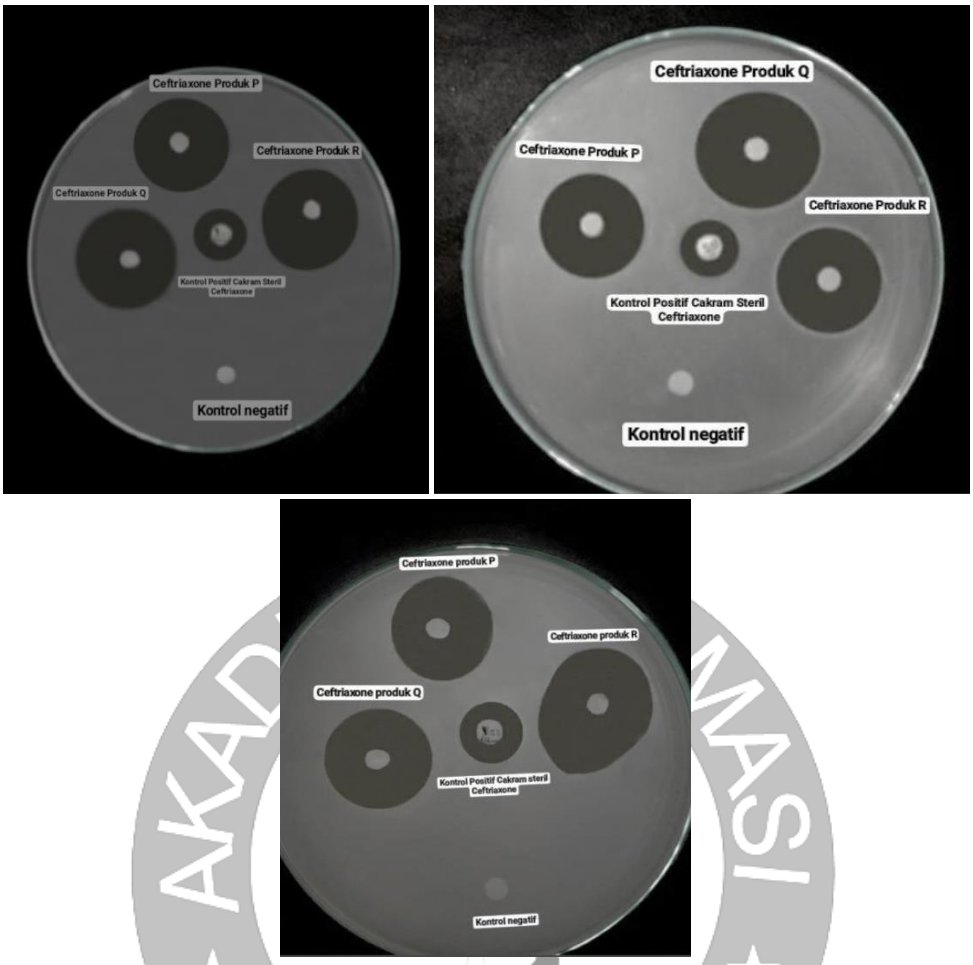
Hasil uji sensitivitas antibakteri beberapa produk antibiotik injeksi *Ceftriaxone* generik terhadap bakteri *Samonella typhi* dengan menggunakan metode difusi Agar. Sampel uji injeksi yang digunakan adalah Injeksi Ceftriaxone merek P, Q dan R. Dasar pemilihan merek tersebut adalah karena pemakaian produk tersebut paling banyak di RS S. Dari hasil uji diperoleh data injeksi *Ceftriaxone* Produk P dengan diameter zona hambat didapatkan 27,76 mm, Injeksi *Ceftriaxone* Produk Q dengan diameter zona hambat didapatkan 28,83 mm, Injeksi *Ceftriaxone* Produk R dengan diameter zona hambat didapatkan 29,96 mm, dan untuk kontrol positif disk *Ceftriaxone* 30µg didapatkan 18,1 mm.

Tabel 1. Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Sediaan Injeksi *Ceftriaxone* Generik Terhadap *Salmonella typhi* dengan Menggunakan Kontrol Positif Disk *Ceftriaxone* 30µg

Sampel	Diameter Daerah Hambat (mm)			Rata-rata Diameter Hambat (mm) ± SD
	1	2	3	
Kontrol Positif disk Ceftriaxone 30µg	18,1	18	18,2	18,1 ± 0,1
Produk P	28,8	26,7	27,8	27,76 ± 1,15
Produk Q	29,4	29,6	27,5	28,83 ± 1,16
Produk R	29,2	28,3	32,4	29,96 ± 2,15



Gambar 1. Grafik Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Sediaan Injeksi *Ceftriaxone* Generik Terhadap *Salmonella typhi* dengan Menggunakan Kontrol Positif Disk *Ceftriaxone* 30µg



Gambar 2. Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Sediaan Injeksi *Ceftriaxone* Generik Terhadap *Salmonella typhi* dengan Menggunakan Kontrol Positif Disk *Ceftriaxone* 30µg

Dari hasil uji, menurut *Clinical Laboratory Standards Institute* (2017) diameter hambat yang beraktivitas lemah (*resisten*) adalah ≤14 mm, diameter hambat yang beraktivitas sedang (*intermediate*) adalah 15-19 mm, dan diameter hambat yang beraktivitas kuat (*susceptible*) ≥20 mm[12].

Dari hasil yang didapat terlihat Produk P, Q, R mempunyai diameter zona hambat lebih besar dan masuk kategori kuat, sedangkan kontrol positif disk *Ceftriaxone* 30 µg didapatkan 18,1 mm masuk kategori sedang. Untuk diameter hambat kontrol positif ternyata lebih kecil dari pada sampel. Hal ini disebabkan oleh jumlah zat uji injeksi *Ceftriaxone* dalam disk lebih besar daripada kadar *Ceftriaxone* kontrol positif. Pada sampel uji injeksi ceftriaksone, konsentrasi sediaan adalah 1g/10mL dilarutkan dengan pelarut aquadest steril. Volume uji yang digunakan adalah 10µl/disk. Artinya dalam 10µl/disk terdapat 1000 µg zat aktif ceftriaxone/disk, sedangkan kontrol positif terdapat 30µg/disk, artinya jumlah zat uji *Ceftriaxone* 33,3 kali lebih besar dari pada kontrol positif. Dari hasil yang didapat kosentrasi zat per disk mempengaruhi diameter yang didapat. Semakin besar konsentrasi zat per disk dalam zat semakin besar diameter yang diperoleh. Pada produk P, Q, R yang telah diuji ternyata punya hambatan yang sangat kuat dan dapat diyakini bahwa sensitif terhadap bakteri *Salmonella typhi.* Ceftriaxone injeksi adalah antibiotic golongan beta lactam, yang bekerja menghambat sintesis dinding sel bakteri terutama bakteri Gram negative. Salmonella thypi adalah bakteri Gram negative, sehingga *Ceftriaxone* cocok digunakan untuk pengobatan penyakit tipoid.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan uji sensitivitas antibakteri beberapa sediaan injeksi *Ceftriaxone* generik terhadap *Salmonella typhi* dengan menggunakan difusi Agar. menunjukkan bahwa Injeksi

Ceftriaxone memiliki daya hambat dengan kategori kuat berdasarkan *Clinical Laboratory Standards Institute* (2017). Antibiotik Injeksi ceftriaxone dapat digunakan untuk pengobatan typoid.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

-

6. PENDANAAN

Penelitian ini menggunakan dana mandiri.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan dan publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kuswiyanto. 2017. Bakteriologi 2 : Buku Ajar Analis Kesehatan. Eka Anisa Mardela, editor. Jakarta.Buku Kedokteran EGC.
2. Dwipoerwantoro, P. G. 2012. Tata Laksana Diare Persisten pada Anak. *Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI-RSCM*.
3. WHO. 2018. *Focus on Typoid Fever*. EWARN weekly summary.
4. Riskesdas. 2018. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI*.
5. Riskesdas. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
6. Satari, S. d. 2010. *Pilihan terapi empiris demam tipoid pada anak : kloramfenikol atau seftriakson.* Sari Pediatri.
7. Rahman., Wasfy., Maksoud., Hanna., Dueger., and B. House. 2014. Multi-drug resistance and reduced susceptibility to ciprofloxacin among Salmonella enterica serovar Typhi isolates from the Middle East and Central Asia. *New microbes and new infections 2*, (4):88-92.
8. Depkes RI. 2006. Pedoman Pengendalian Demam Tipoid. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
9. Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. 2010. *Jawetz,Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 25 th ed.* New York: McGraw Hill Medical.
10. Siswandono dan Bambang, S. 2008. *Kimia Medisinal Edisi 2.* Surabaya: Erlangga.
11. Kemenkes, RI. 2014. *Farmakope Edisi V.* Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
12. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

Halaman kosong

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 7, No. 1, (Januari 2022), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Penelitian

Formulasi Serbuk Instan Kombinasi Bawang Lanang Hitam (*Allium sativum* L.) dan Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Metode *Foam Mat Drying*

Alfian Hendra Krisnawan[1*)], Asti Gusni Dharmawati[1], Husin Rayesh Mallaleng[1]

[1]Fakultas Farmasi Universitas Surabaya
[*)] E-mail : (alfian_hendra_k@staff.ubaya.ac.id)

ABSTRAK

Bawang lanang (*Allium sativum* L.) merupakan tanaman yang memiliki berbagai khasiat, seperti antikanker, antibakteri, antihipertensi, dan antioksidan. Produk olahan dari bawang putih adalah bawang hitam yang dibuat dengan cara fermentasi bawang putih dengan pemanasan pada suhu 60-90°C dalam waktu beberapa hari. Produk yang diformulasi dalam minuman serbuk instan dapat meningkatkan minat konsumsi masyarakat. Tujuan dari penelitian ini adalah pembuatan formula minuman fungsional serbuk instan dari bawang lanang hitam yang dikombinasi dengan bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) menggunakan metode *foam mat drying*. Putih telur digunakan sebagai *foaming agent* dan metil selulosa sebagai *foam stabilizer*. Formula yang dibuat terdiri dari serbuk bawang lanang hitam, serbuk bunga rosella, serbuk kombinasi bawang hitam lanang dan bunga rosella (30:70) dan (50:50). Warna, bau, rasa, dan kadar air pada keempat formula telah memenuhi standar mutu SNI 01-4320-1996. Uji peredaman radikal bebas DPPH dengan parameter IC_{50} menunjukkan bahwa serbuk kombinasi bawang hitam lanang dan bunga rosella (30:70) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan kombinasi (50:50). Uji penerimaan konsumen pada formula serbuk instan kombinasi menunjukkan bahwa konsumen lebih menyukai serbuk kombinasi bawang hitam lanang dan bunga rosella (30:70).

Kata kunci: Formula serbuk instan, bawang lanang hitam, rosella, *foam mat drying*, antioksidan.

Formulation of Instan Powder from the Combination of Single-bulb Black Garlic (*Allium sativum* L.) and Rosella Flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) with Foam Mat Drying Method

ABSTRACT

Single-bulb garlic (Allium sativum L.) is a plant with various properties, such as anticancer, antibacterial, antihypertensive, and antioxidant. The processed product of garlic is black garlic which is made by fermenting garlic by heating at a temperature of 60-90°C within a few days. Formulated products in instant powder drinks can increase public consumption interest. This study aimed to formulate an instant powder functional beverage from single-bulb black garlic combined with rosella flower (Hibiscus sabdariffa L.) using the foam mat drying method. Egg white is used as a foaming agent and methylcellulose as a foam stabilizer. The formula consisted of single-bulb black garlic powder, rosella flower powder, powder combination of single-bulb black garlic, and rosella flower (30:70) and (50:50). The color, smell, taste, and water content of the four formulas have met the quality standard of SNI 01-4320-1996. DPPH free radical scavenging test with parameter IC_{50} showed that the combination powder of single-bulb black garlic and rosella flower (30:70) had higher antioxidant activity than the other combination (50:50). The consumer acceptance test on the combined instant powder formula showed that consumers preferred the combination powder of single-bulb black garlic and rosella flower (30:70).

***Keywords**: Instant powder formula, single-bulb black garlic, rosella, foam mat drying, antioxidant.*

1. PENDAHULUAN

Bawang lanang merupakan bawang putih yang hanya memiliki satu siung (siung tunggal) dan memiliki daya antioksidan lebih baik dibandingkan dengan varietas bawang putih lainnya walaupun memiliki kandungan senyawa yang sama, seperti protein, mineral, vitamin, lipid, asam amino, serta komponen metabolit sekunder lainnya [1]. Perbedaan kandungan bawang putih biasa dan bawang lanang terletak pada kandungan senyawa aktifnya yang berupa minyak atsiri (alliin) dan asam amino yang setara dengan 5-6 siung bawang putih biasa. Inilah yang menyebabkan bawang lanang dipercaya lebih berkhasiat dibandingkan dengan bawang putih [2]. Salah satu olahan bawang putih adalah bawang hitam.

Bawang hitam adalah bawang putih yang telah

mengalami proses pemanasan pada suhu 60-90°C dan kelembaban 80-90% dalam waktu lama [3]. Selama proses pemanasan, aroma bawang hitam lebih tajam dari pada bawang putih dan menghasilkan rasa yang manis [4]. Sebagai hasil, bawang hitam memiliki rasa asam dan manis dengan tekstur seperti *jelly* dan berwarna coklat gelap dan menghasilkan senyawa antioksidan. Bawang hitam memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi, tetapi aktivitasnya rendah sebagai anti-inflamasi, antikoagulan, dan antialergi dibandingkan dengan bawang putih [5].

Pengolahan bawang lanang hitam menjadi pangan fungsional merupakan salah satu cara untuk meningkatkan minat masyarakat dalam mengkonsumsi bawang hitam yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan bawang putih. Pangan fungsional berdasarkan peraturan BPOM No. HK 00.05.52.0685 tahun 2005 adalah pangan olahan yang mengandung satu atau lebih komponen fungsional yang berdasarkan kajian ilmiah mempunyai fisiologis tertentu, terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan [6].

Pada penelitian ini, bawang lanang hitam akan diformulasi menjadi pangan fungsional dalam bentuk serbuk minuman dengan metode *foam mat drying*. Produk ini juga akan dikombinasikan dengan bunga rosella untuk meningkatkan penerimaan bawang hitam lanang yang memiliki bau dan rasa yang khas terhadap konsumen. Rosella memiliki kandungan asam askorbat (vitamin C) dan antosianin yang termasuk senyawa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang efektif dalam menangkal radikal bebas, antidiabetes, antihipertensi dan antibakteri [7]. Antosianin merupakan pigmen alami pada tumbuhan yang menghasikan warna merah pada rosella, sehingga kombinasi bawang lanang hitam dan rosella diharapkan dapat memberikan aktivitas antioksidan serta memperbaiki rasa, aroma, dan warna pada produk pangan fungsional [8]. Berdasarkan latar belakang tersebut, pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada formula serbuk instan bawang lanang hitam yang dikombinasikan dengan bunga rosella dengan metode DPPH melalui parameter IC_{50} dan menguji penerimaan produk di masyarakat dengan menggunakan metode uji hedonik.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah bawang lanang hitam (BLH) dan bunga rosella (BR). Adapun bahan untuk pembuatan serbuk instan antara lain metil selulosa (*food grade*) dan putih telur. Bahan kimia yang digunakan untuk pengujian yaitu etanol 96% (Emsure), DPPH (Sigma-Aldrich) dan aquadem.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, timbangan gram (Ohaus), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), Oven (Memmerth), blender, mixer, pisau, kertas saring dan alat gelas.

2.2. Pembuatan Bawang Hitam [9]

Bawang putih lanang tanpa dikupas dilakukan proses fermentasi dengan pemanasan menggunakan *magic jar* dengan suhu 60-90°C selama 21 hari.

2.3. Pembuatan Formula Serbuk Instan [10]

Pembuatan ekstrak BLH dan ekstrak BR dilakukan dengan menggunakan *blender* dan air dengan perbandingan bahan dan air adalah 1:10. Formula yang dibuat antara lain tunggal BLH, BR dan serbuk kombinasi BLH dan BR dengan perbandingan 30:70 dan 50:50. Pembuatan serbuk dilakukan dengan metode *foam mat drying* dengan menggunakan putih telur sebagai *foaming agent* dan metil selulosa sebagai *stabilizer agen* yang dicampur menggunakan *mixer* selama 10 menit dan kemudian di oven selama 5 jam dengan suhu 50-60°C. Serbuk yang terbentuk kemudian dihomogenkan dengan gula. Formula yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Table 1. Formula masker anti jerawat

Bahan	Serbuk Tunggal BLH	Serbuk Tunggal BR	Serbuk Kombinasi BLH:BR (30:70)	Serbuk Kombinasi BLH:BR (50:50)
Ekstrak BLH	14,4%	-	4,4%	7,7%
Ekstrak BR	-	14,4%	10%	7,7%
Putih telur	2,2%	2,2%	2,2%	2,2%
Metil selulosa	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Gula	83,2%	83,2%	83,2%	83,2%

2.4. Pengujian Organoleptik [11]

Pengukuran kadar air total dilakukan dengan metode termogravimetri (metode oven). Sampel sebanyak 10 g ditimbang pada cawan yang sudah diketahui bobotnya lalu dikeringkan pada oven suhu 105°C selama 3 jam. Setelah itu, didinginkan

dalam eksikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap.

2.5. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diukur menggunakan peredaman radikal bebas DPPH. Penentuan panjang gelombang dilakukan pada konsentrasi DPPH 40 bpj, sedangkan waktu reaksi dengan mencampurkan larutan DPPH dengan sampel dan dilakukan pengukuran absorbansi setiap 5 menit selama 40 menit, kemudian dipilih waktu dengan absorbansi yang stabil atau penurunan absorbansi terkecil. Sampel uji ditimbang 1,0 gram dan dilarutkan dalam 50,0 mL etanol 96%, kemudian dilakukan pengenceran dengan beberapa konsentrasi yang sudah diuji peredaman DPPH secara kualitatif. Pengukuran aktivitas antioksidan sampel uji dengan cara memipet 2,0 mL + 4,0 mL larutan DPPH, dikocok homogen dan didiamkan selama waktu reaksi terpilih, lalu diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Dihitung persen peredaman dari data absorbansi tiap konsentrasi sampel uji, kemudian ditentukan nilai IC_{50}.

2.6. Uji Penerimaan Konsumen [13]

Penerimaan konsumen ditentukan melalui metode uji hedonik meliputi rasa, warna, dan aroma dilakukan pada 25 responden yang diberikan sampel larutan serbuk kombinasi BLH dan BR dengan perbandingan 30:70 dan 50:50. Responden mengisi kuisioner dengan memberikan penilaian satu sampai lima yang terdiri dari sangat tidak suka (1), tidak suka (2), netral (3), suka (4), sangat suka (5). Pengujian statistik dilakukan pada hasil kuisioner menggunakan uji *Mann Whitney U-Test* pada program SPSS 23.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil fermentasi bawang lanang menghasilkan BLH dengan konsistensi sedikit lunak dan memiliki rasa asam dan manis, sedangkan bahan BR yang didapatkan berupa simplisia kering. Kedua bahan diekstraksi menggunakan pelarut air, dimana pelarut air merupakan palerut yang lazim digunakan untuk produk minuman. Hasil ekstraksi diproses menjadi 4 formula menggunakan metode *foam mat drying*. Pemilihan metode ini karena senyawa aktif dalam BLH dan BR dapat dipertahankan malalui proses pengeringan yg dilakukan pada suhu rendah sekitar 50°C sampai 80°C [14]. Serbuk yang dihasilkan dari metode *foam mat drying* dihitung presentase perolehannya dari foam yang terbentuk dan dilakukan pengamatan organoleptis. Hasil perhitungan dan pengamatan dapat dilihat pada tabel 2. Warna yang dihasilkan tidak mengalami perubahan dan dapat disimpulkan bahwa warna serbuk adalah normal, sedangkan aroma dan rasa memiliki karakteristik khas rempah. Gula yang digunakan dalam formula tidak melebihi persyaratan maksinal dari SNI, yaitu 85%. Pengujian organoleptis dan kandungan gula sudah sesuai dengan persyaratan mutu SNI 01-4320-1996 [15].

Tabel 2. Formula Sampel Uji Serbuk Instan

Pengamatan	Serbuk Tunggal BLH	Serbuk Tunggal BR	Serbuk Kombinasi BLH:BR (30:70)	Serbuk Kombinasi BLH:BR (50:50)
Serbuk tanpa gula				
Organoleptis	Warna : Cokat kekuningan Aroma : Khas bawang Rasa : Khas bawang	Warna : Merah Aroma : Khas rosella Rasa : Asam	Warna : Merah kecoklatan Aroma : Khas rosella Rasa : Asam	Warna : Coklat tua Aroma : Khas bawang Rasa : Sedikit asam
Persen Perolehan	4,87 % ± 0,07 %	5,44 % ± 0,08 %	4,49 % ± 0,13 %	4,45 % ± 0,16 %
Serbuk dengan gula				
Organoleptis	Warna : Coklat muda Aroma : Khas bawang Rasa : Manis	Warna : Merah muda Aroma : Khas rosella Rasa : Asam- manis	Warna : Merah muda Aroma : Khas rosella Rasa : Asam- manis	Warna : Coklat muda Aroma : Khas rosella Rasa : Manis

Pengujian kadar air (*moisture content*) keempat formula serbuk instan menghasilkan presentase kadar air dibawah syarat minimal SNI, yaitu 3%. Kadar air untuk serbuk isntan BLH, BR, kombinasi BLH:BR (30:70) dan (50:50) secara berturut-turut adalah 1,36 %, 2,39 %, 1,19 % dan 1,15 %. Kadar air yang relatif rendah dapat memperpanjang umur penyimpanan suatu produk, karena kadar air yang rendah dapat menekan pertumbuhan mikroba dan reaksi kimia [16].

Aktivitas antioksidan pada keempat formula dinyatakan dengan IC_{50}, yaitu konsentrasi sampel (bpj) yang dapat meredam radikal bebas (DPPH) sebesar 50% [17]. Radikal bebas yang digunakan adalah DPPH karena termasuk senyawa radikal yang relatif stabil dibanding senyawa radikal lain, selain itu metode ini juga sederhana, mudah, dan hanya memerlukan sampel dalam jumlah yang sedikit [18].

Hasil perolehan IC_{50} serbuk instan BLH, BR, kombinasi BLH:BR (30:70) dan (50:50) secara berturut-turut adalah 14.181,16 bpj; 11.979,71 bpj; 11.464,16 bpj; 17.864,21 bpj. Formula kombinasi BLH : BR (30:70) menghasilkan aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding kombinasi BLH : BR (50:50), disebabkan karena pada kombinasi tersebut mengandung komposisi bunga rosella yang lebih banyak. Bunga rosella mengandung senyawa yang bersifat asam, kadar antosianin yang besar dan memiliki aktivitas antioksidan tinggi [19]. Hasil perolehan kadar air dan nilai IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Air dan IC50 Serbuk Instan

Formula	Kadar Air (%)	IC_{50} (bpj)
Serbuk Tunggal BLH	1,36 ± 0,02	14.181,16 ± 1250,58
Serbuk Tunggal BR	2,39 ± 0,08	11.979,71 ± 575,71
Serbuk Kombinasi BLH:BR (30:70)	1,19 ± 0,03	11.464,16 ± 958,16
Serbuk Kombinasi BLH:BR (50:50)	1,15 ± 0,02	17.864,21 ± 2519,37

Berdasarkan nilai IC_{50}, aktivitas antioksidan keempat formula merupakan aktivitas yang sangat lemah. Hal tersebut dapat disebabkan karena konsentrasi BLH dan BR dalam formula serbuk instan sangat kecil dibanding dengan bahan tambahannya yaitu 14,4%, selain itu juga disebabkan karena proses pembuatan serbuk instan yang menggunakan panas, sehingga kadar senyawa yang aktif sebagai antioksidan rusak dan berkurang. Suhu dan waktu pemanasan dapat menurunkan kadar senyawa pada simplisia [20,21]. Penambahan bahan tambahan dalam formula, seperti gula juga dapat menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan [22].

Pada penentuan penerimaan konsumen terhadap 2 formula kombinasi BLH : BR (30:70 dan 50:50), digunakan pengujian hedonik melalui parameter rasa, warna dan aroma. Tiga parameter tersebut paling sering digunakan untuk pengujian hedonik pada minuman karena merupakan bagian dalam atribut sensori untuk produk pangan [23]. Pada semua parameter, responden tidak ada yang menyatakan tidak suka (nilai 2) ataupun sangat tidak suka (nilai 1) terhadap 2 formula kombinasi. Melalui uji statistik *Mann Whitney U-Test*, diperoleh hasil bahwa warna dan aroma kedua formula kombinasi tidak ada perbedaan yang bermakna, sedangkan parameter rasa terdapat perbedaan yang bermakna dengan *mean rank* formula BLH : BR (30:70) dan (50:50) secara berturut-turut 34,70 dan 16,30. Hasil pengujian statistik dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Hedonik Formula Kombinasi

Pengujian	*Mean Rank* Formula		*Sig*	*α*
	BLH : BR (30:70)	**BLH : BR (50:50)**		
Rasa	34,70	16,30	0,000	0,05
Warna	25,34	22,66	0,931	0,05
Aroma	26,32	24,68	0,634	0,05

Melalui hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa responden menyukai warna dan rasa pada kedua formula, sedangkan rasa yang lebih disukai adalah formula kombinasi BLH : BR (30:70) dibanding (50:50). Formula kombinasi dengan kadar bunga rosela lebih banyak memberikan dampak kesukaan pada konsumen terutama pada parameter rasa, karena pada kelopak bunga rosella mengandung asam yang tinggi seperti asam sitrat dan asam malat [24], dimana rasa asam dapat meningkatkan kesukaan terhadap produk pangan terutama pada minuman [25,26].

4. KESIMPULAN

Pembuatan formula serbuk instan kombinasi BLH (bawang lanang hitam) dan BR (bunga rosella) menggunakan metode *foam mat drying* menghasilkan parameter organoleptis warna, rasa dan aroma serta kadar air yang memenuhi standar mutu SNI 01-4320-1996. Aktivitas antioksidan dari formula kombinasi BLH : BR dengan komposisi

30:70 lebih tinggi dari pada 50:50. Penerimaan konsumen pada parameter warna dan aroma disukai oleh konsumen pada kedua formula kombinasi, sedangkan pada parameter rasa, lebih disukai formula kombinasi BLH : BR komposisi 30:70 dibanding 50:50.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Surabaya yang telah mendukung penelitian mandiri ini berupa fasilitas laboratorium dan tenaga ahli.

6. PENDANAAN

Penelitian ini didanai oleh sumber dana mandiri.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Koswara S., 2009. Teknologi Pengolahan Mie [diakses 20 Agustus 2019]. Tersedia dari http://tekpan.unimus.ac.id/wpcontent/uploads/2013/07/Teknologi-Pengolahan-Mie-teori-dan-praktek.pdf.
2. Prasonto D, Riyanti E, Gartika M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih *(Allium sativum)*. ODNTO Dental Journal.2017;Vol.4 No.2:122-128.
3. Utami P, dan Mardiana L. Umbi Ajaib Tumpas Penyakit. Jakarta: Penebar Swadaya, hal 45-49; 2013.
4. Kimura S, Tung YC, Pan MH, Su NW, Lai YJ, Cheng KC. Black garlic: a critical review of its production, bioactivity, and application. JFDA 25. 2017;62-70.
5. Jing H. Review Black Garlic: Processing, Composition Change, and Bioactivity. eFood. 2020.
6. Ryu JH & Kang D. Physicochemical Properties, Biological Activity, Health Benefits, and General Limitations of Aged Black Garlic: A Review. Molecules. 2017; 22, 919.
7. BPOM. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK. 00.05.1.52.0685 tahun 2005 tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Pangan Fungsional. Jakarta : BPOM. 2005.
8. Nurnasari E, Khuluq AD. Potensi Diversifikasi Rosela Herbal (*Hibiscus Sabdariffa* L.) untuk Pangan dan Kesehatan. Buletin Tanaman Tembakai, Serat & Minyak Industri. 2017; Vol.9(2):82-92.
9. Djaeni M, Nita A, Rahmat H, dan Fabriani D. Ekstraksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. 2017; 6(3):148-151.
10. Choi S, Cha HS, Lee YS. Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. Molecules. 2014;19:16811-16823.
11. Kartini, Krisnawan AH, Silvanus LC, Wijaya TP. Formulation of functional beverages from the combination of lime, tomato, and carrot using foam-mat drying method. Pharmaciana. 2019; Vol.9, No.2:335-344.
12. Normilawati, Fadlilaturrahmah, Hadi S, Normaidah. Penetapan Kadar Air Dan Kadar Protein Pada Biskuit Yang Beredar Di Pasar Banjarbaru. CERATA Jurnal Ilmu Farmasi. 2019; Vol.10,No.2:51-55.
13. Krisnawan AH, Bidiono R, Sari DR, Salim W. Potensi Antioksidan Ekstrak Kulit dan Perasan Daging Buah Lemon (*Citrus Lemon*) Lokal dan Impor. Prosiding Seminar Nasional 2017 Fakultas Pertanian UMJ; Jakarta, Indonesia.
14. Naibaho NM, Munthe S, Popang EG, Zamroni A. Uji Sensoris Minuman Kulit Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*). Buletin LOUPE. 2019; Vol.15, No.01:24-30.
15. Mulyani T, Yulistiani R, Nopriyanti M. Pembuatan Bubuk Sari Buah Markisa dengan Metode "*Foam-Mat Drying*". J. Rekapangan 8. 2014; no.1.
16. Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-4320-1996 Serbuk Minuman Tradisional. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional. 1996.
17. Amanto BS, Siswanti, Atmaja A. Kinetika Pengeringan Temu Giring (*Curcuma heyneana Valeton & van Zijp*) Menggunakan *Cabinet Dryer* dengan Perlakuan Pendahuluan *Blanching*.Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. 2015; Vol VIII, No.2:107-114.
18. Widyasanti A, Rohdiana D, Ekatama N. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Putih (*Camellia sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). Fortech.2016; 1(1).
19. Rahmawati, Muflihunna A, Sarif LM. Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan Metode DPPH. Jurnal Fitofarmaka Indonesia. 2015; Vol.2, no.2.
20. Inggrid M, Hartanto Y, Widjaja JF. Karakteristik Antioksidan pada Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). Jurnal Rekayasa Hijau. 2018; No.3, Vol.2.
21. Mardiah Z, Oktaviani R, Kusbiantoro B, Handoko DD. Pengaruh Proses Pemanasan terhadap Senyawa Fenolik pada Beras Berwarna. Prosiding Seminar Nasional 2016, Buku 1; 2017; Jakarta, Indonesia. Indonesia: Balai Besar Penelitian Tanaman Padi;2017.
22. Ameliya R, Nazaruddin, Handito D. Pengaruh Lama Pemanasan terhadap Vitamin C, Aktivitas Antioksidan dan Sifat Sensoris Sirup Kersen (*Muntingia calabura* L.). Pro Food (Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 2018; Vol.4, No.1.
23. Octaviani LF dan Rahayuni A. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Gula terhadap Aktivitas Antioksidan dan Tingkat Penerimaan Sari Buah Buni (*Antidesma bunius*). Journal of Nutrition College. 2014; Vol.3, No.4:958-965.

24. Hayati R, Marliah A, Rosita F. Sifat Kimia dan Evaluasi Sensori Bubuk Kopi Arabika. J. Floratek. 2012; 7:66-75.
25. Friskila E, Sinaga H, Suhaidi I. 2018. Pengaruh Perbandingan Daun Kelor dengan Bunga Rosella dan Suhu Penyeduhan terhadap Mutu Minuman Herbal Kelor Rosella. J. Rekayasa Pangan dan Pertanian. 2018;Vol.6,No.3:335.
26. Imanuela M, Sulisyawati, Ansori M. Penggunaan Asam Sitrat dan Natrium Bikarbonat dalam Minuman Jeruk Nipis Berkarbonasi. FSCE. 2012; 1(1).
27. Soemaryoto. Pengaruh Penggunaan Asam Tinggi Terhadap Tingkat Preferensi Konsumen dan Umur Simpan Produk Permen. Jurnal Agroindustri Halal. 2016; Vol.2, No.1:037.

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 7, No. 1, (Januari 2022), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Penelitian

Pemetaan Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kayu Secang (*Caesalpinia sappan)* Secara *In Silico*

Dewi Ratih Tirto Sari[1,2*)], Gabriella Chandrakirana Krisnamurti[3], Yohanes Bare[4]
[1]Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy, Situbondo, Jawa Timur, Indonesia
[2]Pusat Studi SMONAGENES, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, Indonesia
[3]Biotechnology Program, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 10150 Bang Khun Thian, Bangkok, Thailand,
[4]Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahhuan Alam, Universitas Nusa Nipa, Nusa Tenggara Timur, Indonesia.
[*)] E-mail: (dratih303@gmail.com)

ABSTRAK

Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L) merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia dan daigunakan untuk berbagai keperluan baik dalam bidang tekstil dan kesehatan. Kayu secang mengandung senyawa bioaktif golongan homoisoflavonoid yang memberikan warna merah. pigmen alami ini banyak digunakan untuk pewarna alami tekstil dan juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk memetakan fungsi biologis senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak kayu secang. Senyawa bioaktif didapatkan dari kajian Pustaka penelitian sebelumnya dan dari database. Struktur masing-masing senyawa diprediksi aktivitas biologinya melalui program online PASS *Two Way Drug* dan ditampilkan dalam bentuk *heatmap*. Berdasarkan prediksi bioaktivitas senyawa berdasarkan struktur senyawa didapatkan masing-masing senyawa memiliki pola yang unik. Senyawa Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether 3'-O-Methylbrazilin, 2'-Methoxyisoliquiritigenin, Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether dan Quercetin-3′ ,4′ -Di-O-Methyl Ether menunjukkan aktivitas antioksidan dengan penangkapan radikal nitric oksida, antimikobakteri, antibakteri, antiinflamasi, pereda nyeri dengan penghambatan lipoxygenase, dan antagonis neurotransmitter. Selain itu senyawa Quercetin-3′,4′-Di-O-Methyl Ether (17) juga menunjukkan aktivitas antivirus yang tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya. Sedangkan 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) dan Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether (27) menunjukkan aktivitas neuroprotektif yang lebih tinggi dari senyawa lainnya. Penelitian lanjutan berupa *molecular docking* dan *molecular dynamic* perlu dilakukan untuk selanjutnya.

Kata kunci: *Caesalpinia sappan*, in silico, kayu secang, metabolit sekunder, pemetaan bioaktivitas.

Virtual Mapping of secondary metabolite activities containing in *Caesalpinia sappan* L. heartwood through in silico study

ABSTRACT

Caesalpinia sappan L heartwood is a leguminoceae plant that grow in Indonesia landscape, uses as traditional herbal medicine and natural textile dye. Caesalpinia sappan heartwood also contains homoisoflavonoids as natural pigment and bioactive compound, promotes several human health benefits. This study provide biological function prediction and mapping through in silico approach. The compounds from Caesalpinia sappan were listed and downloaded from Knapsack webserver. PubChem NCBI was used to retrieve the canonical smiles of Caesalpinia sappan compounds. Biological activity of Caesalpinia were predicted by Online PASS Two Way drug website and performed in heatmap. Structure activity relationship (SAR) of quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether 3'-O-Methylbrazilin, 2'-Methoxyisoliquiritigenin, Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether and Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether revealed antioxidant, nitric oxide scavenger, antimycobacterial, antibacterial, antiinflammation, and act as lipoxygenase inhibitor agent. Furthermore, Quercetin-3',4'-Di-O-Methyl Ether (17) proved higher antivirus activity than other compounds. 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) and Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether (27) performed higher neuroprotective effect than others. Molecular docking and dynamis are required for further investigation.

Keywords: *biological activity, bioactivity mapping, Caesalpinia sappan heartwood, in silico.*.

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan megabiodiversitas flora tertinggi kedua setelah Brazil. Salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia yaitu secang (*Caesalpinia sappan).* Kayu secang dimanfaatkan bagian dalam kayu atau disebut *heartwood* untuk pewarna alami pada tekstil, makanan, rempah masakan dan obat tradisional [1–8]. Pigmen alami pada kayu secang telah dilaporkan mengandung senyawa brazilin dan hematoxylin yang dimanfaatkan untuk pembuatan batik. Di daerah Indonesia timur, ekstrak kayu secang dipekatkan dan digunakan untuk pewarna kain tenun tradisional [7, 8]. Di bidang medis, juga tidak kalah penting. Kajian etnobotani pada masyarakat di Indonesia, kayu secang banyak digunakan untuk komposisi jamu tradisional. Manfaat kayu secang yaitu untuk demam, mencegah dan mengobati flu dan batuk, dan lainnya [2, 7].

Ekstrak kayu secang telah dilaporkan memiliki berbagai macam aktivitas biologi seperti aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi [2–5, 7, 9–11]. Aktivitas tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder pada kayu secang. Kayu secang secara umum terdeteksi beberapa senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, homoisoflavonid, triterpenoid, dan tannin [10, 12–15]. Pemetaan bioaktivitas senyawa bioaktif kayu secang belum banyak informasi. Penelitian ini bertujuan untuk memetakan fungsi biologis senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak kayu secang.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan pendekatan bioinformatika dengan data sekunder yang diunduh dari pangkalan data di *National center for biotechnology information (NCBI).* Informasi kandungan senyawa pada kayu secang (*Caesalpinia sappan)* diperoleh dari kajian literatur dan database knapsack (http://www.knapsackfamily.com/) [16]. *Canonical smile* dari masing-masing senyawa didapatkan dari database PubChem NCBI (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) untuk prediksi bioaktivitas masing-masing senyawa. Bioaktivitas senyawa diprediksi menggunakan program PASS-two way drug (http://www.way2drug.com/) dan dianalisis dengan Origin Pro 2021 untuk tampilan pemetaan atau *heatmap.*

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Senyawa yang terkandung di dalam kayu secang (Caesalpinia sappan)

Jumlah senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak kayu secang yaitu 29 senyawa yang disajikan dalam Tabel 1.

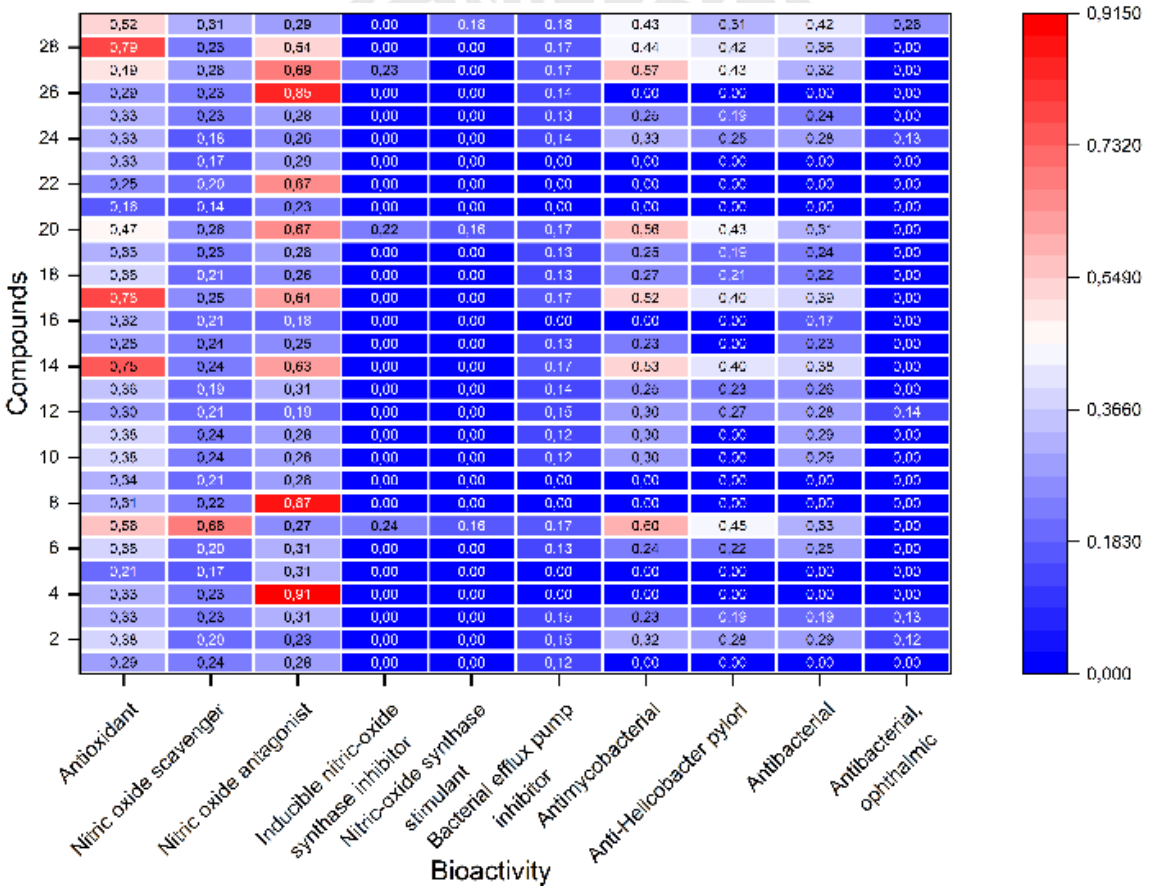
Tabel 1. Senyawa yang teridentifikasi dalam kayu secang (*Caesalpinia sappan)*

No	Senyawa	Referensi	CID
1	Brazilin	[6, 12, 18]	73384
2	Sappanone A	[6, 12, 18]	9817274
3	Protosappanin	[6, 9, 12, 18]	128001
4	Hematoksilin	[6, 12]	442514
5	Caesalpin J	[9, 18]	139600686
6	Sappanone B	[9, 18]	13888976
7	Sappanchalcone	[9]	5319493
8	Caesalpiniaphenol E	[17]	71450718
9	Caesalpiniaphenol F	[17]	14522836
10	Episappanol	[18]	13846650
11	Sappanol	[18]	13846649
12	3′-Deoxysappanone A	[19]	44443280
13	Caesalpiniaphenol A	[19]	71454364
14	Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether	[19]	5280417
15	3′-Deoxy-4-O-Methylepisappanol	[19]	71463283
16	10,11-Dihydroxydracaenone C	[19]	71450773
17	Quercetin-3′,4′-Di-O-Methyl Ether	[19]	5380905
18	3-Deoxysappanone B	[16]	15703606
19	4-O-Methyl Episappanol	[16]	13888974
20	2'-Methoxyisoliquiritigenin	[16]	13842401
21	Phanginin K	[16]	24854301
22	Neosappanone A	[16]	101353537
23	Protosappanin E-2	[16]	14608471
24	8-Methoxybonducellin	[16]	73299135
25	4-O-Methylsappanol	[16]	13888973
26	3'-O-Methylbrazilin	[16]	13846641
27	Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether	[16]	5319688
28	Ombuin	[16]	5320287
29	Gallic Acid	[16]	370

Senyawa tersebut termasuk dalam kelompok senyawa flavonoid, fenolik, dan alkaloid. Kayu secang memiliki fenotip dan ekstrak dengan warna merah – oranye. Pigmen kayu secang ini disebabkan oleh kandungan homoisoflavonoid berupa senyawa brazilin, sappanon A, protosappanin dan hematoxylin [6, 12]. Selain itu, pigmen kayu secang juga teridentifikasi mengandung senyawa turunan sappanin yang larut di dalam pelarut ethanol 70%. Senyawa bioaktif tersebut antaralain protosappanin A, protosappanin C, protosappanin B, (3R,4S)-3-(3,4-hydroxybenzyl)-3,4-dihydro-2″,3″-dimethyl-3H-[1,3]dioxolo[4,5-c]chromen-7-ol, caesalpin J, sappanone B, dan sappanchalcone [9]. Min et al mengidentikfikasi dua senyawa fenolik, derivatif sappanin, yaitu caesalpiniaphenol E dan caesalpiniaphenol F [17]. Mueller et al., (2016) juga melaporkan lima senyawa turunin sappanin yang teridentifikasi dlam ekstrak kayu secang yakni episappanol, protosappanin C, brazilin, isoprotosappanin B dan sappanol [18]. Beberapa senyawa lainnya yaitu caesalpiniaphenol A – D, quercetin-3,7-di-O-methyl ether, 3-deoxysappanone B, sappanone A, 3´-deoxy-4-O-methylepisappanol, 10,11-dihydroxydracaenone C, quercetin-3´,4´-di-O-methyl ether, 3´-deoxysappanone B, dan 3´-deoxysappanone A juga terdeteksi di dalam ekstrak kayu secang [19]..

3.2 Aktivitas Antioksidan dan antimikroba senyawa Caesalpinia sappan

Profil aktivitas antioksidan dan antimikroba senyawa *Caesalpinia sappan* tertera pada Gambar 1.



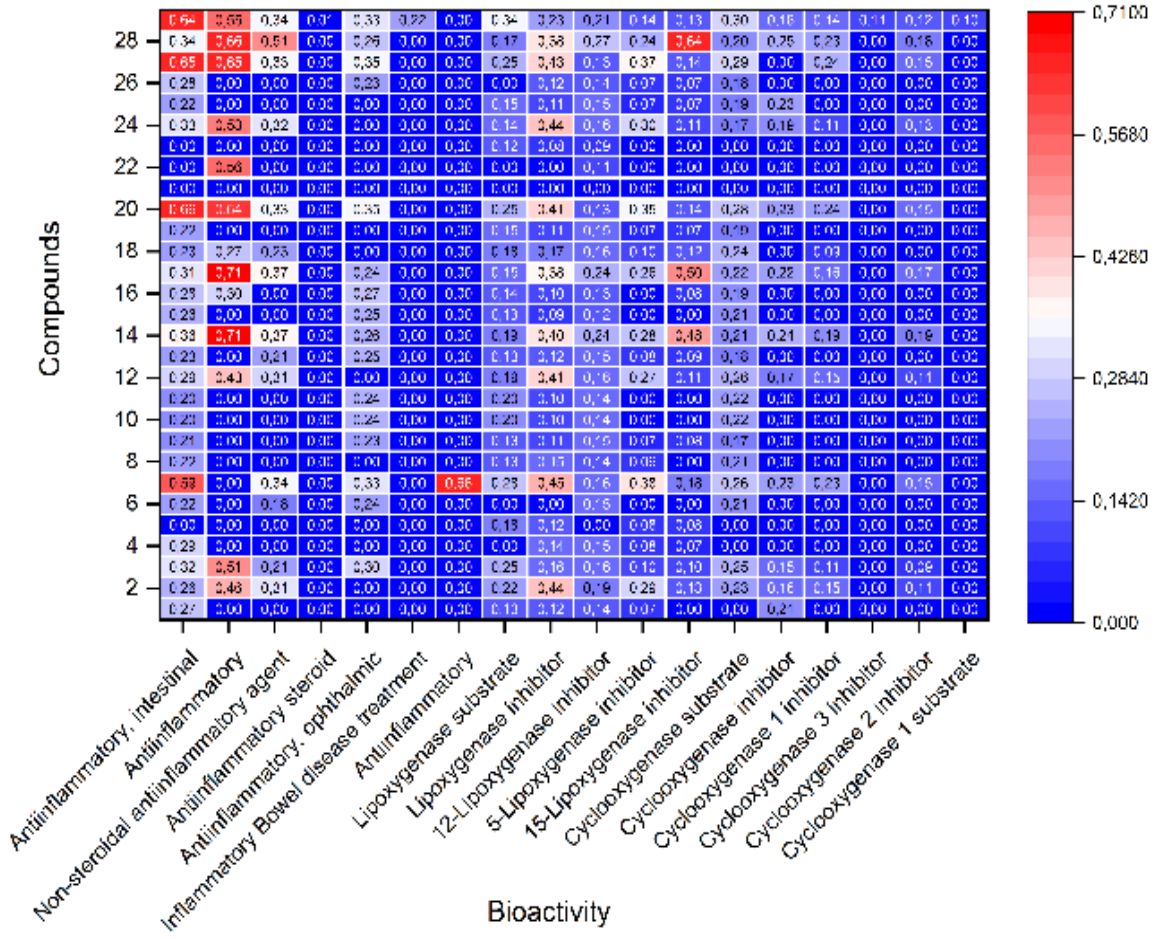
Gambar 1. Pemetaan aktivitas antioksidan dan antimikroba senyawa *Caesalpinia sappan*

Aktivitas antibakteri 29 senyawa kayu secang secara umum rendah, yaitu dibawah 60%. Parameter antimikroba yang digunakan antaralain *Bacterial efflux pump inhibitor*, *Antimycobacterial*, *Anti-Helicobacter pylori*, *Antibacterial*, dan *Antibacterial ophthalmic* (Gambar 1). Senyawa 7,14, 17, 20, 27,28, 29 menunjukkan aktivitas antimycobacterial yang lebih tinggi dari lainnya. senyawa yang memiliki aktivitas *Anti-Helicobacter pylori* yaitu senyawa 7, 14, 17, 20, 26 dan 27. Sedangkan aktivitas antibacterial yang tinggi lebih yaitu 2, 6, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 1 9, 20, 24,

25, 27, 28, dan 29.

3.3 Aktivitas antiinflamasi senyawa Caesalpinia sappan

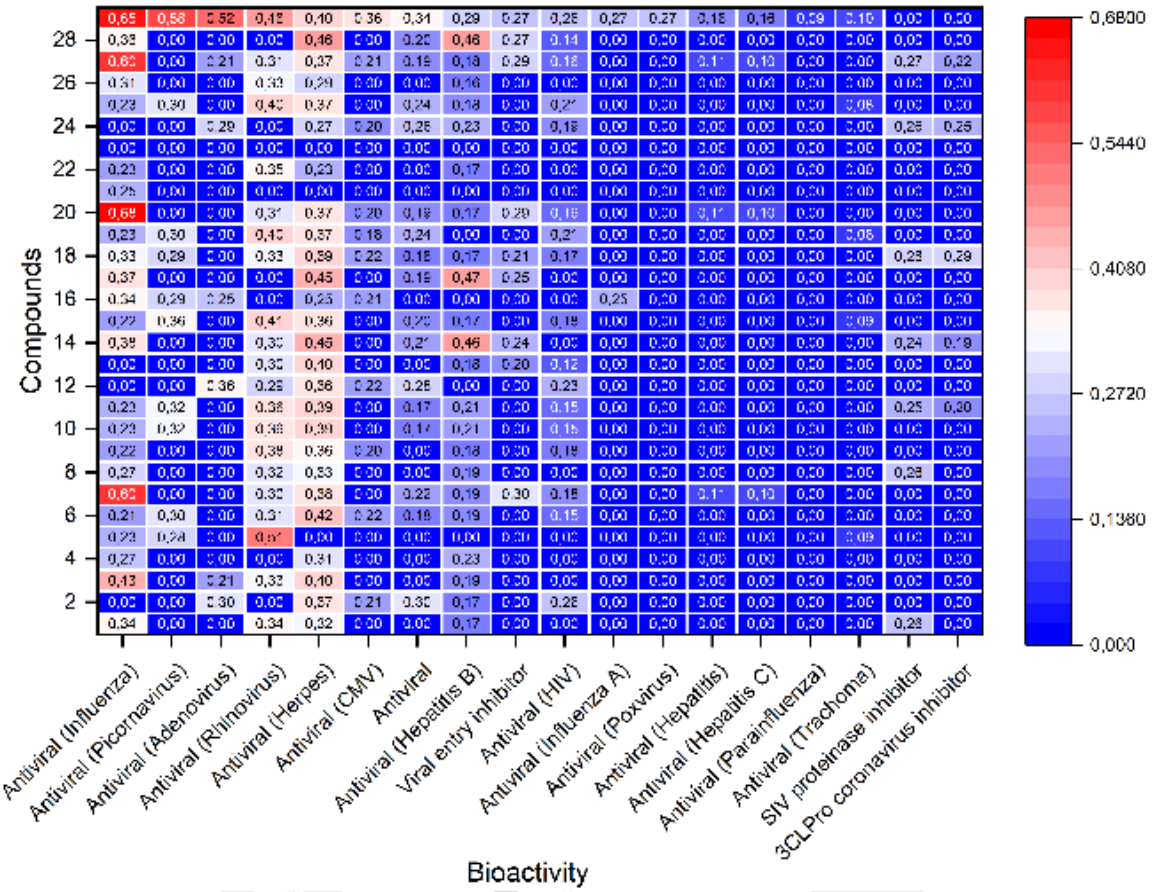
Untuk menguji aktivitas antiinflamasi pada 29 senyawa, 18 parameter antiinflamasi digunakan untuk uji. Parameter tersebut antara lain *Antiinflammatory intestinal, Antiinflammatory, Non-steroidal antiinflammatory agent, Antiinflammatory steroid, Antiinflammatory ophthalmic, Inflammatory Bowel disease treatment, Antiinflammatory, Lipoxygenase substrate, Lipoxygenase inhibitor, 12-Lipoxygenase inhibitor, 5-Lipoxygenase inhibitor, 15-Lipoxygenase inhibitor, Cyclooxygenase substrate, Cyclooxygenase inhibitor, Cyclooxygenase 1 inhibitor, Cyclooxygenase 3 inhibitor, Cyclooxygenase 2 inhibitor,* dan *Cyclooxygenase 1 substrate*. Berdasarkan *Antiinflammatory intestinal, Antiinflammatory, Non-steroidal antiinflammatory agent, Antiinflammatory ophthalmic, dan Lipoxygenase inhibitor*, semua senyawa kayu secang menunjukkan aktivitas antiinflamasi (Gambar 2). Senyawa 7, 20, 24, 27, 28, dan 29 memiliki aktivitas *anti-inflammatory intestinal* yang lebih tinggi dari senyawa lainnya. Senyawa 2, 3, 14, 17, 20, 22, 24, 27, 28, dan 29 menunjukkan antiinflamasi yang tinggi secara umum. Senyawa 14, 17, 28 menunjukkan potensi sebagai agen inhibitor 15 – lipoxygenase.



Gambar 2. Pemetaan aktivitas antiinflamasi senyawa *Caesalpinia sappan*

3.4 Aktivitas anti-virus senyawa Caesalpinia sappan

Senyawa 29 menunjukkan aktivitas antivirus yang relatif lebih tinggi dari senyawa lainnya (Gambar 3). Kandungan senyawa pigmen kayu secang memiliki efektivitas antivirus influenza yang cukup tinggi. selain itu secara umum aktivitas antivirus terhadap virus *Rhinovirus* dan herpes menunjukkan aktivitas yang tinggi. menariknya beberapa senyawa kayu secang seperti 12, 14, 18, 24, dan 27 menunjukkan aktivitas antivirus dengan target protein 3C like-protease coronavirus.

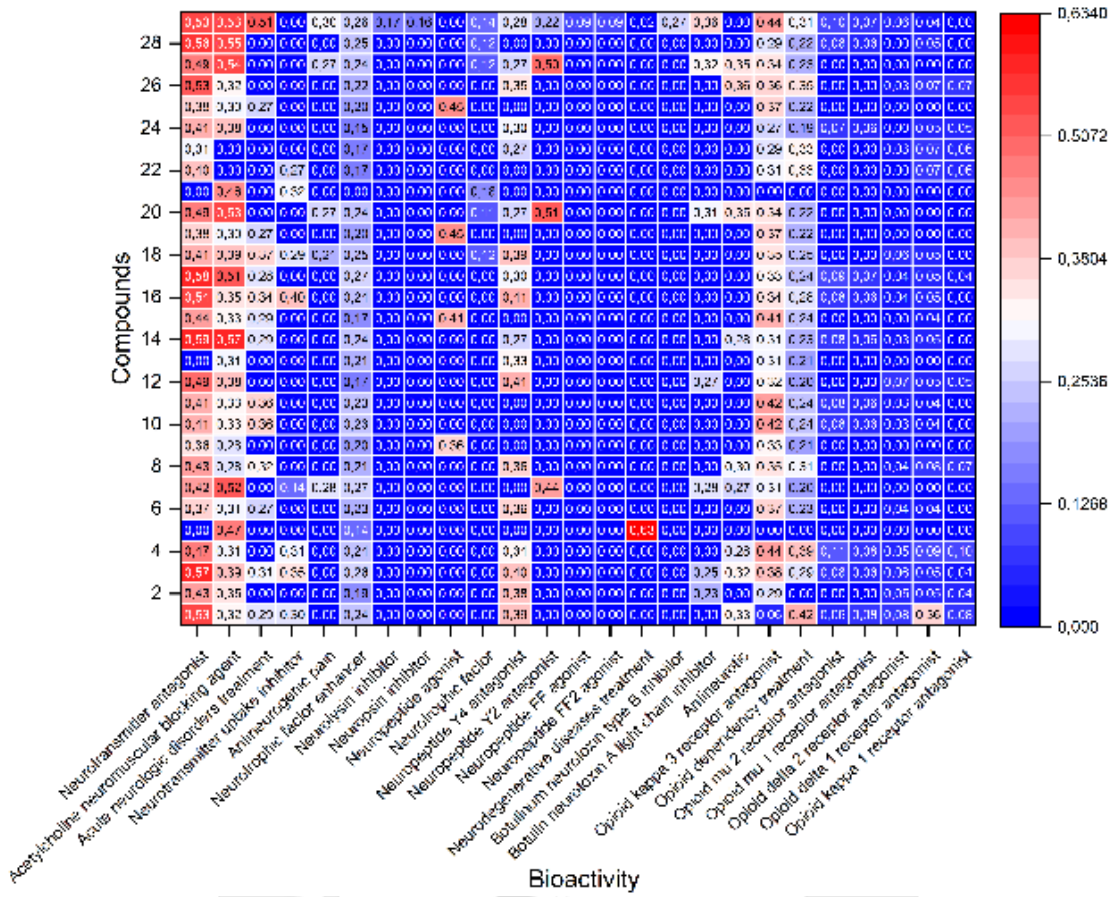


Gambar 3. Pemetaan aktivitas antiinflamasi senyawa *Caesalpinia sappan*

3.5 Aktivitas neuroprotektif senyawa Caesalpinia sappan

Semua senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak kayu secang menunjukkan aktivitas neuroprotektif dan penghambat opioid (Gambar 4). Aktivitas neuroprotektif ini dapat berperan untuk mencegah Alzheimer, dementia, dan penyakit neuron lainnya. aktivitas penambatan opioid reseptor oleh senyawa yang terkandung dalam kayu secang dapat digunakan sebagai bahan terapi ketergantungan terhadap opium. Sepuluh dari 25 parameter neuroprotektif dan agen penambat reseptor opioid, yaitu *Neurotransmitter antagonist, Acetylcholine neuromuscular blocking agent, Neurotrophic factor enhancer, Opioid kappa 3 receptor antagonist, Opioid dependency treatment, Opioid mu 2 receptor antagonist, Opioid mu 1 receptor antagonist, Opioid delta 2 receptor antagonist, Opioid delta 1 receptor antagonist,* dan *Opioid kappa 1 receptor antagonist* menunjukkan aktivitas neuron yang didominasi oleh semua senyawa.

Senyawa 1, 3, 12, 14, 16, 17, 20, 26, 27, 28, dan 29 memiliki aktivitas neurotransmitter antagonis yang tinggi. Aktivitas *acetylcholine neurotransmitter blocking agent* yang tinggi ditunjukkan oleh senyawa 5, 7, 14, 17, 20, 27, 28, dan 29. Senyawa 29 menunjukkan potensi *acute neurologic disorder treatment* yang tinggi. Senyawa 7, 20, dan 27 menunjukkan potensi agonis *neuropeptide* Y4. Senyawa 5 juga menunjukkan potensi *Neurodegenerative diseases treatment* yang paling tinggi dibandingkan lainnya. Target senyawa kayu secang sebagai inhibitor reseptor *opioid didominasi oleh reseptor opioid kappa 3* dan *Opioid dependency treatment.* Berdasarkan aktivitas neuroprotektif, senyawa 20 dan 27 menunjukkan potensi yang lebih tinggi dari senyawa lainnya.



Gambar 4. Pemetaan aktivitas neuroproteksi senyawa *Caesalpinia sappan*

Prediksi aktivitas biologi yang didasarkan struktur disebut sebagai *structure–activity relationships* (SAR). Melalui struktur, karakter fisikokimia dan aktivitas biologi suatu senyawa dapat diprediksi [11, 13, 20, 21]. Prediksi bioaktivitas berdasarkan struktur senyawa lebih efisien dalam pendekatan *in silico.* Prediksi ini dapat meminimalisir kegagalan dalam penelitian, utamanya penelitian *in vitro* dan *in vivo.* Selain itu, skrining awal juga bertujuan untuk menentukan senyawa yang paling berpotensi di dalam suatu bahan. Penemuan dalam penelitian ini yaitu terdapat beberapa senyawa dengan pola dan bioaktivitas masing-masing. Senyawa Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether (14) dan Quercetin-3′,4′-Di-O-Methyl Ether (17) memiliki aktivitas Antioksidan, *antagonis nitric oxide, antimycobacterial, Anti-Helicobacter pylori, antibacterial, antiinflamasi, inhibitor 15 – lipoxygenase, neurotransmitter antagonis*. Senyawa Quercetin-3′,4′-Di-O-Methyl Ether (17) juga menunjukkan aktivitas antivirus yang tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya.

Senyawa 3'-O-Methylbrazilin (26) menunjukkan bioaktivitas sebagai antioksidan, antagonis nitric oxide, *Anti-Helicobacter pylori*, neurotransmitter antagonis. Senyawa 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) dan Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether (27) antagonis nitric oxide, antimycobacterial, *Anti-Helicobacter pylori*, antibacterial, anti-inflammatory intestinal, antiinflamasi, *Neurotransmitter antagonist, Acetylcholine neuromuscular blocking agent, neuropeptide* Y4, neurotransmitter antagonis. Senyawa Ombuin (28) dan Gallic Acid (29) berpotensi sebagai antimycobacterial, antibacterial, anti-inflammatory intestinal, antiinflamasi, *acetylcholine neurotransmitter blocking agent*, dan neurotransmitter antagonis.

Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether dan Quercetin-3′,4′-Di-O-Methyl Ether merupakan turunan dari senyawa quercetin dengan tambahan gugus metil (CH3) dan ether [22]. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa 3'-O-Methylbrazilin, senyawa turunan brazilin dan menentukan warna merah pada ekstrak kayu

secang. Senyawa ini memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 445nm dan 518nm. Brazilin dan turunannya merupakan kelompok homoisoflavon yang memiliki strutur dasar inti 2-phenylchroman. 2-phenilchroman terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan atom C3. Struktur dasar ini lah yang menyebabkan adanya pigmen merah dan terdapatnya karaketristik serapan pada cahaya tampak (*visible)* [1, 12, 21, 23, 24]. Ombuin merupakan senyawa yang terbentuk akibat metilasi quercetin. Senyawa ombuin dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan dapat ditemukan pada beberapa tanaman dengan genus *Caesalpinia* [25].

4. KESIMPULAN

Senyawa Quercetin-3,7-Di-O-Methyl Ether (14) dan Quercetin-3′,4′-Di-O-Methyl Ether (17) menunjukkan bioaktivitas yang paling tinggi sebagai antioksidan, penangkap *nitric oxide*, *antagonis nitric oxide*, antibakteri, *antimycobacteria*, antiinflamasi, penambat 15-lipoxygenase. Selain itu senyawa Quercetin-3′,4′-Di-O-Methyl Ether (17) juga menunjukkan aktivitas antivirus yang tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya. Sedangkan 2'-Methoxyisoliquiritigenin (20) dan Isoliquiritigenin 2'-Methy Ether (27) menunjukkan aktivitas neuroprotektif yang lebih tinggi dari senyawa lainnya. Uji molecular docking dan molecular dynamic perlu dilakukan untuk mengetahui mekanisme biologis tersebut.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada CV Delta Science yang telah memberikan pelatihan analisis data dengan pendekatan *in silico*.

6. PENDANAAN

Penelitian ini didanai oleh hibah riset CV Delta Science, Malang.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian dan publikasi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fatoni A, Anggraeni MD, Zusfahair, et al. Natural reagent from Secang (Caesalpinia sappan L.) heartwood for urea biosensor. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 2019; 509: 0–7.
2. Naik Bukke A, Nazneen Hadi F, Babu KS, et al. In vitro studies data on anticancer activity of Caesalpinia sappan L. heartwood and leaf extracts on MCF7 and A549 cell lines. *Data in Brief* 2018; 19: 868–877.
3. Muhamad A, Akbar I, Muhamad A, et al. Antioxidant Activity In Sappan Wood (*Caesalpinia sappan* L .) Extract Based On Ph Of The Water Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kayu Sepang (Caesalpinia Sappan L .) Berdasarkan Ph Air. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* 2021; 12: 39–44.
4. Febriyanti; Suharti, N; Lucida, H; Husni, E; Sedona O. Karakterisasi dan Studi Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Secang (Caesalpinia sappan L.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 2018; 5: 23–27.
5. Kumala S, Tulus D. Aktivitas Antibakteri Rebusan Secang (Caesalpinia Sappan L.) Terhadap Salmonella Thypii Secara In Vivo (Antibacterial Activity of Boiled Secang Extract (Caesalpinia Sappan L.) Againts Salmonella Typhii in Vivo). *Agritech* 2013; 33: 46–52.
6. Nirmal NP, Rajput MS, Prasad RGSV, et al. Brazilin from Caesalpinia sappan heartwood and its pharmacological activities: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2015; 8: 421–430.
7. Mathew G, Skaria BP, Mathew S, et al. Caesalpinia sappan - an economic medicinal tree for the tropics. *National symposium on 'Medicinal and Aromatic Plants for the Economic benefit of Rural People (MAPER)*, 2007; 1–7.
8. Widyasti, AR; Lestari, A; Amri, K; Naufal, F; Budiasih K. Pengembangan Standarisasi Pewarna Alami Batik Dari Kulit Kayu Secang (Caesalpinia Sappan L.) Dengan Teknik Spektroskopi. *Jurnal Penelitian Saintek* 2017; 22: 49–58.
9. Niu Y, Wang S, Li C, et al. Effective Compounds From Caesalpinia sappan L. on the Tyrosinase In Vitro and In Vivo. *Natural Product Communications*; 15. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.1177/1934578X20920055.
10. Dwi Rusita Y, Suhartono. Flavonoids content in extracts secang (Caesalpinia Sappan L.) maceration method infundation analysis and visible ultraviolet spectrophotometer. *International Journal of Medical Research & Health Sciences* 2016; 5: 176–181.
11. Sari DRT, Bare Y. Physicochemical properties and biological activity of bioactive compound in Pepper nigrum: In silico study. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi* 2020; 1: 1–6.
12. Nguyen VB, Vu BD, Pham GK, et al. Phenolic Compounds from Caesalpinia sappan. *Pharmacognosy Journal* 2020; 12: 410–414.
13. Zengin G, Zheleva-Dimitrova D, Gevrenova R, et al. Identification of phenolic components via LC–MS analysis and biological activities of two Centaurea species: C. drabifolia subsp. drabifolia and C. lycopifolia. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*

2018; 149: 436–441.
14. Hwang HS, Shim JH. Brazilin and Caesalpinia sappan L. extract protect epidermal keratinocytes from oxidative stress by inducing the expression of GPX7. *Chinese Journal of Natural Medicines* 2018; 16: 203–209.
15. Widigdyo A, Widodo E, Djunaidi IH. Extract of Caesalpinia sappan L. as Antibacterial Feed Additive on Intestinal Microflora of Laying Quail. *The Journal of Experimental Life Sciences* 2017; 7: 7–10.
16. Nakamura Y, Asahi, Hiroko; Altaf-Ul-Amin; Kurokawa, Ken; Kanaya S. KNApSAcK: A Comprehensive Species-Metabolite Relationship Database, http://www.knapsackfamily.com/KNApSAcK/ (2008, accessed 12 January 2022).
17. Min BS, Cuong TD, Hung TM, et al. Compounds from the heartwood of Caesalpinia sappan and their anti-inflammatory activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2012; 22: 7436–7439.
18. Mueller M, Weinmann D, Toegel S, et al. Compounds from Caesalpinia sappan with anti-inflammatory properties in macrophages and chondrocytes. *Food and Function* 2016; 7: 1671–1679.
19. Cuong TD, Hung TM, Kim JC, et al. Phenolic compounds from caesalpinia sappan heartwood and their anti-inflammatory activity. *Journal of Natural Products* 2012; 75: 2069–2075.
20. Guha R. On exploring structure-activity relationships. *Methods in Molecular Biology* 2013; 993: 81–94.
21. Krihariyani D, Wasito EB, Isnaeni I, et al. In Silico Study on Antibacterial Activity and Brazilein ADME of Sappan Wood (Caesalpinia Sappan L.) against Escherichia coli (Strain K12). *Systematic Reviews in Pharmacy* 2020; 11: 290–296.
22. Guerrero MF, Puebla P, Carrón R, et al. Quercetin 3,7-dimethyl ether: a vasorelaxant flavonoid isolated from Croton schiedeanus Schlecht . *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2010; 54: 1373–1378.
23. Dapson RW, Bain CL. Brazilwood, sappanwood, brazilin and the red dye brazilein: From textile dyeing and folk medicine to biological staining and musical instruments. *Biotechnic and Histochemistry* 2015; 90: 401–423.
24. Warinhomhaun S, Sritularak B, Charnvanich D. A simple high-performance liquid chromatographic method for quantitative analysis of brazilin in caesalpinia sappan L. extracts. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences* 2018; 42: 208–213.
25. Pan C, Lü H. Preparative separation of quercetin, ombuin and kaempferide from Gynostemma pentaphyllum by high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 2019; 57: 265–271.

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 7, No. 1, (Januari 2022), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Penelitian

Kemampuan Lidah Buaya Sebagai Pereduksi Kandungan Formalin pada Daging Ayam Kampung Berformalin

Cicik Herlina Yulianti[1*)], Surahmaida[1]
[1]Akademi Farmasi Surabaya
[*)] E-mail: (cicikherlina@akfarsurabaya.ac.id)

ABSTRAK

Salah satu bahan berbahaya yang sering ditemukan pada saat survei pengawasan pangan adalah formalin. Formalin digunakan oleh pedagang yang tidak bertanggung jawab sebagai pengawet makanan karena harganya murah dan mudah digunakan. Oleh karena itu dibutuhkan upaya mengurangi kandungan formalin pada makanan, salah satunya dengan menggunakan bahan alami seperti lidah buaya. Berdasarkan penelitian, lidah buaya mengandung saponin yang dapat digunakan untuk mengurangi kandungan formalin pada makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi larutan lidah buaya yang dapat memberikan penurunan kadar formalin terbesar pada sampel daging ayam kampung berformalin. Metode yang digunakan dalam penelitian ini ada tiga tahap. Tahap pertama adalah merendam daging ayam kampung dalam larutan formalin 0,1% selama 1 jam kemudian disaring untuk mendapatkan sampel daging ayam kampung berformalin. Tahap kedua adalah merendam sampel daging ayam kampung berformalin dalam larutan pereduksi lidah buaya dengan konsentrasi 0, 30, 60, dan 90% selama 1 jam kemudian disaring untuk mendapatkan filtratnya. Tahap ketiga adalah menganalisis filtrat hasil perendaman menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui berapa kadar formalin sisa yang ada pada daging ayam tersebut. Hasil dari penelitian ini adalah semakin tinggi konsentrasi larutan lidah buaya maka semakin besar penurunan kandungan formalin dalam sampel. Penurunan kandungan formalin terbesar diperoleh dari perendaman larutan lidah buaya dengan konsentrasi 90%, yang dapat mereduksi formalin sebesar 29,87%.

Kata kunci: Formalin, Lidah buaya, Saponin, Ayam kampung, Spektrofotometer UV-Vis.

The Potential of Aloe Vera as Formalin Reductor in Formalyzed Javanese Chicken Meat

ABSTRACT

One of the hazardous materials that are often found during food control surveys is formalin. Formalin is used by irresponsible traders as a food preservative because it is cheap and easy to use. Therefore, efforts are needed to reduce the formalin content in food, one of which is by using natural ingredients such as aloe vera. Based on research, aloe vera contains saponins that can be used to reduce the formaldehyde content in food. This study aims to find out the concentration of aloe vera solution that can provide the largest reduction in formalin levels in samples of formalized chicken meat. The methods used in this study have three stages. The first stage is to soak the chicken meat in a 0.1% formalin solution for 1 hour then filtered to get samples of formalized chicken meat. The second stage is to soak samples of formalized chicken meat in a solution of aloe vera reduction with concentrations of 0, 30, 60, and 90% for 1 hour then filtered to get the filtrate. The third stage is to analyze the immersion filtrate using the UV-Vis Spectrophotometer to find out what the remaining formalin levels are in the chicken meat. The result of this study was that the higher the concentration of aloe vera solution, the greater the decrease in formalin content in the sample. The largest decrease in formalin content was obtained from soaking aloe vera solution with a concentration of 90%, which can reduce formalin by 29,87%.

Keywords: Formaldehyde, Aloe vera, Saponins, Javanese Chicken, UV-Vis spectrophotometry.

1. PENDAHULUAN

Berdasarkan survei pasar yang dilakukan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dalam rangka pengawasan pangan dari bahan berbahaya, ditemukan beberapa produk makanan yang mengandung bahan berbahaya seperti boraks, formalin, metanil yellow, dan rhodamine B. Makanan-makanan yang mengandung bahan yang sudah dilarang oleh pemerintah ini, jika dikonsumsi masyarakat dapat membahayakan kesehatan. Makanan-makanan ini dijual oleh para pedagang yang tidak bertangggung jawab dimana mereka sengaja memilih menggunakan formalin dari pada

pengawet makanan yang dipebolehkan seperti natrium benzoat dan asam sorbat, karena selain harganya lebih murah, formalin juga lebih mudah digunakan karena berupa larutan dan mudah dibeli di toko-toko kimia[1].

Formalin merupakan nama dagang untuk formaldehid. Sedangkan formaldehid sendiri termasuk dalam senyawa organik golongan aldehid. Berdasarkan penelitian dari badan riset internasional untuk penyakit kanker atau Internasional Agency for Research on Cancer (IARC), mengklasifikasikan zat-zat yang dapat memicu penyakit kanker pada manusia dimana salah satunya adalah Formaldehid [2].

Bertambahnya kasus penyalahgunaan formalin dan bahaya formalin bagi kesehatan, membutuhkan upaya untuk melindungi masyarakat dari mengkonsumsi makanan yang mengandung formalin, upaya yang bisa dilakukan adalah dengan menggunakan tes kit uji formalin yang bisa dilakukan di rumah. Sayangnya, harga tes kit uji formalin yang dijual di pasaran cukup mahal. Oleh karena itu, dibutuhkan upaya lain dengan cara meminimalisir kandungan formalin pada makanan menggunakan bahan alami yaitu lidah buaya.

Lidah buaya (*Aloe vera* L.) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk mereduksi kadar formalin secara alami karena kaya akan senyawa saponin. Tanaman lidah buaya memiliki kandungan senyawa saponin yang cukup tinggi, sekitar 5,651% per 100 g [3].

Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyebutkan senyawa saponin pada lidah buaya terbukti efektif dalam menurunkan kadar formalin pada makanan. Rianingsih *et al*. [4] menyebutkan bahwa lidah buaya (*Aloe vera* L.) 20% dengan perendaman 60 menit menurunkan kadar formalin sebesar 66,78% pada *fillet* ikan bandeng. Sopandi *et al.* [3] juga mengemukakan konsentrasi lidah buaya (*Aloe vera* L.) 60% dengan perendaman 60 menit dapat menurunkan kadar formalin hingga 92,12% pada daging ayam *broiler*.

Lidah buaya dinilai aman dikonsumsi. Tanaman ini telah digunakan sejak lama sebagai bahan makanan di Indonesia. Meskipun bukan tanaman asli Indonesia, lidah buaya dapat tumbuh baik hampir di seluruh daerah di Indonesia. Lidah buaya adalah salah satu jenis tanaman yang mudah didapat dan harganya terjangkau. Berdasarkan hasil dari beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan keefektifan saponin untuk mengurangi senyawa formalin, maka penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh variasi konsentrasi larutan lidah buaya dalam mereduksi formalin menggunakan sampel daging ayam kampung yang telah direndam formalin. Dengan adanya penelitian ini, diharapkan masyarakat dapat memanfaatkan tanaman lidah buaya sebagai alternatif untuk meminimalisir kandungan formalin pada ayam kampung sebelum diolah dengan cara perendaman

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat

Spektrofotometer UV-Vis split beam (Genesys 10S UV-VIS, kuvet (Spestroquant), timbangan analitik (OHAUS), penangas air, alat-alat gelas.

2.2. Bahan

Aquades, larutan baku formalin 37% merk Merck, lidah buaya (*Aloe vera* L.), dan ayam kampung.

2.3. Rancangan Penelitian

a. Tahap Preparasi Sampel

Sampel penelitian ini menggunakan daging ayam kampung masing-masing seberat ± 5 g yang direndam dalam 50 mL larutan formalin 0,1% selama 1 jam. Kemudian disaring, untuk mendapatkan daging ayam berformalin.

b. Tahap Perendaman

Daging ayam berformalin kemudian direndam selama 1 jam dalam 50 mL larutan pereduksi lidah buaya (*Aloe vera* L.) dengan konsentrasi 0, 30, 60, dan 90%. Sampel daging ayam hasil perendaman tersebut kemudian dipanaskan dengan 50 mL aquades pada erlenmeyer bertutup selama 1 jam pada suhu 40±2 °C sambil dikocok selama 1 menit setiap 15 menit. Kemudian dibiarkan dingin lalu disaring ke dalam labu ukur 100 mL untuk selanjutnya dianalisis secara kuantitatif.

c. Tahap Analisis

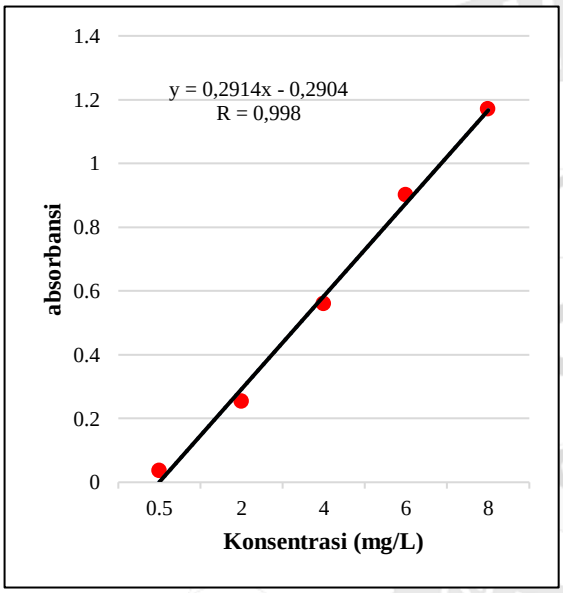
Filtrat dari masing-masing perendaman kemudian dilakukan pengenceran 10x. selanjutnya, memipet filtrat sebanyak 5,0 mL ke dalam labu ukur 10 mL, dan volumenya dicukupkan dengan pereaksi nash sampai tanda batas, kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 40±2 °C lalu dibiarkan dingin pada temperatur kamar. Kemudian sampel diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang

maksimum, dan dicatat serapan yang didapat dan kadar formalin dalam sampel daging ayam kampung dihitung

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kurva Kalibrasi

Untuk menentukan kadar formalin dalam daging ayam, diperlukan kurva kalibrasi dari larutan standar formalin. Sebelum membuat kurva kalibrasi, dibuat terlebih dahulu larutan baku kerja dengan konsentrasi 0,5; 2; 4; 6 dan 8 mg/L kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri Uv Vis. Grafik hasil plot antara konsentrasi larutan baku kerja formalin dengan nilai absorbansinya ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva kalibrasi formalin

Dari kurva kalibrasi tersebut diperoleh persamaan garis lurus y = 0,2914x - 0,2904 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,998. Berdasarkan Harmita (2004), parameter hubungan linieritas yang ideal dicapai jika nilai r = +1 atau -1 tergantung pada arah garisnya [5]. Sedangkan pada penelitian ini diperoleh nilai r mendekati 1 yaitu sebesar 0,998 yang artinya terdapat hubungan yang mendekati linier antara konsentrasi formalin dengan absorbansinya sehingga kurva kalibrasi ini bisa digunakan untuk menghitung konsentrasi formalin pada sampel daging ayam.

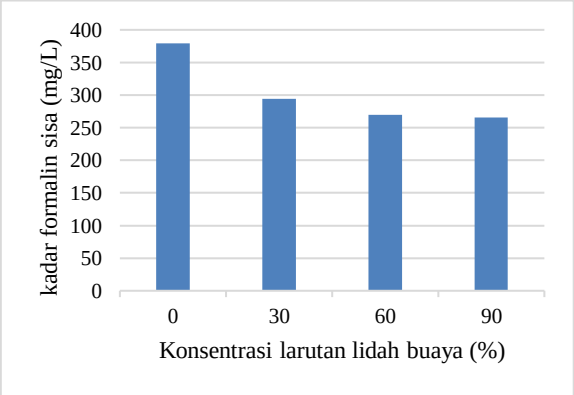
3.2. Formalin pada Sampel Daging Ayam

Hasil pengujian kandungan formalin pada daging ayam setelah direndam menggunakan larutan lidah buaya (0, 30, 60 dan 90 %) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Formalin hasil perendaman

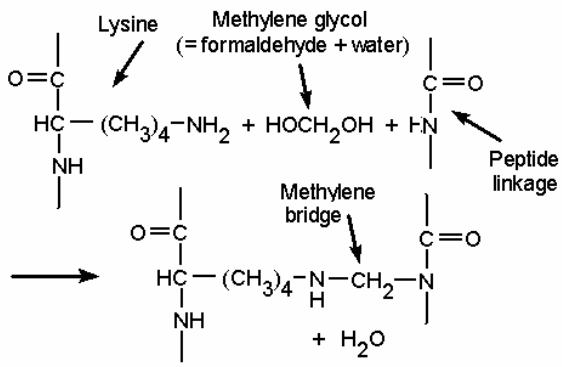
Konsentrasi Larutan Pereduksi (%)	Replikasi	Kadar Formalin		%Penurunan
		Kadar Formalin (µg/g)	Rata-rata (µg/g)	
0	R1	379,56	378,89	-
	R2	378,89		
	R3	378,21		
30	R1	293,90	294,13	22,37 %
	R2	295,25		
	R3	293,23		
60	R1	269,99	269,52	28,87 %
	R2	269,29		
	R3	269,29		
90	R1	265,70	265,70	29,87 %
	R2	265,70		
	R3	265,70		

Dari tabel 1 dapat diketahui bahwa bahwa semakin besar konsentrasi larutan lidah buaya yang digunakan untuk merendam, maka semakin sedikit kandungan formalin yang tersisa pada daging ayam. Kandungan formalin paling kecil terdapat pada daging ayam kampung yang direndam dengan larutan lidah buaya 90%. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Perbandingan kadar formalin hasil perendaman menggunakan larutan lidah buaya (0%, 30%, 60% dan 90 %)

Pada gambar 2 dapat diketahui bahwa kandungan formalin pada daging ayam setelah direndam dengan air (larutan lidah buaya 0%) paling besar jika dibandingkan dengan kandungan formalin yang direndam dengan larutan lidah buaya 30, 60, dan 90%. Hal ini menunjukkan bahwa daging ayam yang direndam dengan formalin, maka protein pada daging ayam tersebut akan berikatan dengan formalin. Mekanisme ikatan formalin dengan protein dapat dijelaskan pada gambar 3. Gugus aldehid dari formaldehid dapat bereaksi dengan atom nitrogen dan juga atom-atom dari protein lainnya, membentuk ikatan silang -CH_2- yang disebut sebagai jembatan *methylen* [6]



Gambar 3. Mekanisme reaksi formalin dengan protein[6]

Pada penelitian ini daging ayam yang direndam dengan menggunakan air saja menghasilkan residu formalin paling besar jika dibandingkan dengan direndam menggunakan larutan lidah buaya.

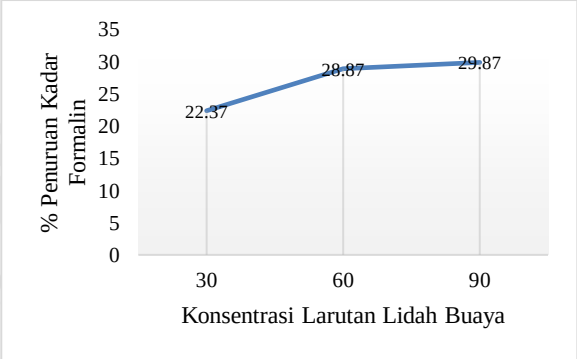
Sebenarnya perendaman dengan menggunakan air saja sudah dapat mengurangi formalin dari daging ayam hal ini disebabkan karena ikatan antara protein dan formalin dapat terputus dengan adanya reaksi hidrolisis. Sebagaimana dijelaskan oleh Purawisastra S. (2017), bahwa gugus aldehid dari formaldehid dapat berikatan dengan protein membentuk senyawa *methylen.* Dengan bantuan air senyawa *methylen* dapat terurai kembali menjadi formaldehid dan protein, dan reaksinya bersifat reversibel [7].

Setelah senyawa *methylen* terurai menjadi formaldehid dan protein, formaldehid akan larut dalam air. Hal ini disebabkan karena adanya ikatan hidrogen antara formaldehid dengan atom hidrogen dari air [8].

Untuk mengetahui efektivitas larutan lidah buaya dalam mengurangi kandungan formalin pada daging ayam, maka dilakukan pengamatan kadar formalin pada daging ayam yang telah direndam dengan larutan lidah buaya dengan berbagai konsentrasi yaitu 30, 60 dan 90%. Hasil pengamatan ditampilkan pada Gambar 4.

Dari Gambar 4 dapat diketahui untuk perendaman dengan larutan lidah buaya konsentrasi 30% dapat menurunkan kadar formalin sebesar 22,37 %, perendaman dengan konsentrasi larutan lidah buaya 60% dapat menurunkan kadar formalin sebesar 28,87 %, dan perendaman dengan konsentrasi larutan lidah buaya 90% dapat menurunkan kadar formalin sebesar 29,87 %. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsetrasi larutan lidah buaya maka semakin banyak penurunan kadar formalin pada daging ayam.

Adanya penurunan kadar formalin ketika perendaman dengan menggunakan larutan lidah buaya 30, 60 & 90% diduga karena peranan dari saponin yang ada dalam lidah buaya. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sopandi (2014), bahwa Lidah buaya (*Aloe vera* L.) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk mereduksi kadar formalin secara alami karena lidah buaya kaya akan senyawa saponin. Tanaman lidah buaya memiliki kandungan senyawa saponin yang cukup tinggi sekitar 5,651% per 100 g [3].



Gambar 4. Grafik perbandingan % penurunan formaldehid hasil perendamana larutan lidah buaya 30%, 60%, dan 90%

Saponin adalah glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon. Aglikon, (disebut juga sapogenin) memiliki struktur yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid dan bersifat non polar. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami[9].

Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air, sehingga air lebih mudah menembus ke dalam daging ayam, akibatnya formalin dapat larut lebih banyak ke dalam air. Adanya saponin yang memiliki sifat sebagai surfaktan dapat menurunkan tegangan permukan dari air, karena sisi polar dari saponin berikatan dengan air sehingga memudahkan air masuk kedalam daging dan memudahkan proses hidrolisis.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat diperoleh kesimpulan bahwa tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.) dapat digunakan untuk menurunkan kandungan formalin pada daging ayam kampung berformalin. Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi larutan lidah buaya yang digunakan, maka semakin besar pula penurunan kandungan

formalin pada sampel. Penurunan kandungan formalin tertinggi diperoleh dari perendaman larutan lidah buaya dengan konsentrasi 90%, yang dapat mereduksi formalin sebesar 29,87%.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada asisten penelitian yang telah membantu selama proses penelitian, yaitu menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan di laboratorium multipurpose dan kimia farmasi, serta menyediakan literatur yang dibutuhkan, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya.

6. PENDANAAN

Penelitian ini didanai dari program penelitian dosen internal yang diselenggarakan oleh Lembaga Penjamin Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Akademi Farmasi Surabaya.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Distapang. Waspada 4 Bahan Berbahaya dalam Pangan Berikut Ini! [dinduh 21 Agustus 2021]. Tersedia dari: Dinas Ketahanan Pangan Kota Semarang (semarangkota.go.id)
2. Ritmaleni. Mengurangi Formalin dalam Makanan. Available from: 2015-8-30-81665Mengurangi-Formalin-dalam-Makanan.pdf (ugm.ac.id).
3. Sopandi T, Nurfi NL. Degradasi Kandungan Formalin pada Daging Ayam Broiler (*Gallus domesticus*) Berformalin dengan Perendaman Larutan Lidah Buaya (*Aloe vera*). J Mat Dan Ilmu Penetahuan Alam Unipa [Internet]. 2014;07(02):12–7. Available from: https://doi.org/10.36456/stigma.vol7.no2.a518 .
4. Rianingsih, P Anisa Fadhilah, Ma'ruf W RL. Efektivitas Lidah Buaya (*Aloe vera*) di dalam Mereduksi Formalin pada Fillet Ikan Bandeng (*Chanos chanos Forsk*) Selama Penyimpanan Suhu Dingin [Internet]. J Pengolah dan Bioteknol Has Perikan. 2013;2(434):1–32. Available from: https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jpbhp/article/view/3780.
5. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhiungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2004. Vol I (3). p 117-135.
6. Kiernan, J.A. Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde and glutaraldehyde: What they are and what they do. Microscopy Today. 2000. 00-1 pp. 8-12.
7. Purawisastra S., Sahara E. Penyerapan Formalin Oleh Beberapa Jenis Bahan Makanan Serta Penghilangannya Melalui Perendaman Dalam Air Panas. The Journal of Nutrition and Food Research. 2017. Vol 40 (2). p 63-74.
8. Sarwendra F.A. Penurunan Kadar Formalin pada Tahu dengan Perendaman dalam air hangat. (Skripsi). Jember: Universitas Jember. 2015.
9. Fahrunnida, Pratiwi R. Kandungan Saponin Buah, Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Prosiding Seminar Nasional Konservasi & Pemanfaatan Sumber Daya Alam; 2015 Januari 13; Surakarta. Indonesia. Indonesia: Universitas Sebelas Maret; 2015.

Halaman kosong

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 7, No. 1, (Januari 2022), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Penelitian

Efek Penurunan Ekspresi MHCII Pada Sel Mikroglia HMC3 Teraktivasi M_1 *Polarity* Oleh Fraksi *n*-Heksana dan Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.)

Burhan Ma'arif[1*)], Faisal Akhmal Muslikh[2], Abdul Malik Guhir[1], Hilwa Fitri[1], Luqman Alfani Najib[1], Novyananda Salmasfattah[1], Hening Laswati[3], Mangestuti Agil[4]

[1]Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang
[2]Mahasiswa Magister Ilmu Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya
[3]Departemen Ilmu Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya
[4]Departemen Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya
[*)] E-mail: (burhan.maarif@farmasi-uin.malang.ac.id)

ABSTRAK

Neuroinflamasi merupakan kondisi patologis pada sel saraf yang mengalami kehilangan fungsi secara progresif, salah satunya disebabkan defisiensi estrogen. Fitoestrogen merupakan senyawa yang memiliki struktur dan fungsi yang mirip dengan 17β-estradiol, bentuk alami estrogen yang paling poten. Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) diketahui mengandung senyawa fitoestrogen yang dapat menggantikan fungsi 17β-estradiol dalam tubuh dalam menjaga homeostasis organ tubuh, sehingga potensial dikembangkan sebagai antineuroinflamasi. Penelitian ini bertujuan membuktikan aktivitas antineuroinflamasi fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat daun Semanggi secara *in vitro* pada sel mikroglia HMC3, melalui pengukuran ekspresi major *histocompatibility complex* II (MHC II). Kedua fraksi dengan konsentrasi 62,5; 125; dan 250 µg/ml diberikan pada pada sel mikroglia HMC3 yang telah diinduksi *interferon gamma* (IFN-γ) selama 24 jam. Pengukuran ekspresi MHC II menggunakan metode *immunocytochemistry* (ICC) dan instrumen *confocal laser scanning microscopy* (CLSM). Hasil penelitian menunjukan fraksi *n*-heksana dapat menurunkan ekspresi MHC II pada konsentrasi 250 µg/ml pada $p<0,05$, serta menunjukkan pola *non-monotonic dose response* (NMDR), sedangkan fraksi etil asetat dapat menurunkan ekspresi MHC II pada semua konsentrasi pada $p<0,05$. Berdasarkan hasil uji korelasi, aktivitas antineuroinflamasi terbaik pada sel mikroglia HMC3 ditunjukkan oleh fraksi etil asetat daun Semanggi.

Kata Kunci : Fitoestrogen, *Marsilea crenata* Presl., MHC II, Sel Mikroglia HMC3.

Effects of Reduction of MHCII Expression on M_1 Polarity Activated HMC3 Microglia Cells By n-Hexane And Ethyl Acetate Fraction of Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) Leaves

ABSTRACT

Neuroinflammatory is a pathological condition in which neuronal cells experience progressive loss of function, one of which is due to estrogen deficiency. Phytoestrogens are compound that has structure and function similar to 17β-estradiol, the most potent natural form of estrogen. Semanggi (Marsilea crenata Presl.) is known to contain phytoestrogens which can replace the function of 17β-estradiol in maintaining organ homeostasis, so that is potential to be developed as an anti-neuroinflammatory drug. This study was aimed to prove the anti-neuroinflammatory effect of the n-hexane and ethyl acetate fraction of Semanggi leaves on HMC3 microglia cells, by measuring the expression of major histocompatibility complex II (MHC II). Both fractions with a concentration of 62.5; 125; and 250 µg/ml were administered to HMC3 microglia cells which had been induced by interferon gamma (IFN-γ) for 24 hours. Measurement of MHC II expression were using immunocytochemistry (ICC) methods and confocal laser scanning microscopy (CLSM) instruments. The results showed that n-hexane fraction could reduce MHC II expression at concentrations of 250 µg/ml with $p<0.05$, and showed a non-monotonic dose response (NMDR) pattern, while ethyl acetate fraction could reduce MHC II expression at all concentrations with $p<0.05$. Based on the results of the correlation test, the best anti-neuroinflammatory activity on HMC3 microglia cells is showed by the ethyl acetate fraction of Semanggi leaves.

Keywords: *Phytoestrogens, Marsilea crenata Presl., MHC II, HMC3 Microglia Cell.*

1. PENDAHULUAN

Pemanfaatan tumbuhan obat sebagai bahan obat merupakan bagian dari tradisi dari masyarakat Indonesia yang secara turun-temurun diwariskan dari generasi ke generasi [1]. Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang merupakan salah satu tanaman yang terkenal di Surabaya, Jawa Timur sebagai makanan khas masyarakat setempat diketahui memiliki kandungan fitoestrogen seperti genistein dan daidzein yang telah dibuktikan dari berbagai penelitian [2,3,4,5,6]. Fitoestrogen muncul sebagai sumber pengobatan alternatif untuk penyakit-penyakit akibat defisiensi estrogen, salah satunya penyakit neurodegeneratif yang ditandai dengan adanya neuroinflamasi pada otak [7,8,9].

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antineuroinflamasi fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat daun Semanggi dalam menghambat progresifitas neuroinflamasi yang ditandai dengan penurunan ekspresi *major histocompatibility complex* II (MHC II) pada sel *human microglial clone* 3 (HMC3) [8,9]. Kondisi defisiensi estrogen diciptakan dengan induksi *interferon gamma* (IFN-γ) pada sel mikroglia HMC3 [10]. IFN-γ dapat mengaktivasi sel mikroglia HMC3 pada *classical pathway* menjadi keadaan M_1 *polarity*, dimana sel mikroglia HMC3 aktif bersifat proinflamasi [10,11]. Faktor penanda yang diamati yaitu MHC II, MHC II dipilih karena protein ini spesifik dihasilkan ketika sel mikroglia HMC3 teraktivasi M_1 *polarity* [12,13,14,15]. Pada penelitian ini, digunakan pelarut *n*-heksana karena pada penelitian sebelumnya fraksi *n*-heksana daun Semanggi diketahui dapat meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra dan femur pada mencit betina. Aktivitas ini diduga disebabkan kandungan fitoestrogen di dalam daun Semanggi [16]. Sedangkan pelarut etil asetat dipilih karena pelarut etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa semi polar di dalam daun Semanggi. Diketahui mayoritas senyawa aktif pada tumbuhan di alam bersifat semi polar [17,18].

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan metode *immunocytochemistry* (ICC), yaitu metode identifikasi reaksi molekuler yang memanfaatkan reaksi antigen dengan antibody yang dianalisis dengan mikroskop dengan pembacaan label atau faktor penanda spesifik, dalam hal ini adalah MHC II [19]. Reaksi imunologis ini mampu memvisualisasi faktor penanda untuk pengamatan aktivitas dalam bentuk fluoresensi. Pengamatan reaksi antigen dan antibodi yang dianalisis menggunakan *confocal laser scanning microscope* (CLSM), yaitu suatu teknik mikroskopi non-invasif dalam menghasilkan gambar resolusi tinggi tiga dimensi dari sampel biologis baik sel ataupun jaringan, dengan prinsip fluoresensi protein yang terkandung dalam sel atau jaringan tersebut [20,21]. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas antineuroinflamasi dari fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat daun Semanggi secara *in vitro* pada sel mikroglia HMC3, melalui pengukuran ekspresi *major histocompatibility complex* II (MHC II).

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Daun Semanggi dipanen dari Kelurahan Benowo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia pada September 2019 dan diidentifikasi di UPT Materia Medica, Batu, Jawa Timur, Indonesia dengan kunci determinasi 1a-17b-18a-1. Daun dikeringkan dan digiling untuk mempertahankan warna hijaunya. Pelarut *n*-heksana dan etil asetat diperoleh dari Merck (Darmstadt, Jerman), *fetal bovine serum* (FBS), *eagle's minimum essential medium* (EMEM), *dimethyl sulfoxide* (DMSO), antibodi sekunder, penisilin, dan streptomisin dibeli dari Abcam (Cambridge, Inggris). Reagen lainnya seperti *paraformaldehid* (PFA), tween 80, triton X-100 dari Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

2.2 Kultur Sel

Sel mikroglia HMC3 didapatkan dari *the American type culture collection* (ATCC) (Virginia, Amerika Serikat). Sel dikultur didalam flask 25 cm^2, yang mengandung 10% FBS, 1% penstrep yang digunakan untuk menghindari kontaminasi bakteri dan jamur, media komplit EMEM ±5 ml. Kemudian dimasukan ke dalam incubator CO_2 5% pada suhu 37 ^oC. Diinkubasi ±60 hari.

2.3 Proses Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses ekstraksi menggunakan metode *ultrasonic assisted extraction* (UAE). Ditimbang 900 g serbuk simplisia daun Semanggi ditambahkan 14,5 L etanol 96%, diekstraksi dengan *ultrasonic bath soltec* selama 3 x 2 menit. Selanjutnya disaring dan filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator Heidolph* G3 pada suhu 50 ^oC. Hasil ekstrak etanol 96% kemudian dikeringkan di oven Memmert dengan suhu 40 ^oC.

Setelah didapatkan ekstrak etanol yang kering selanjutnya ekstrak yang didapatkan di lakukan fraksinasi dengan teknik partisi cair-cair dengan perbandingan (1:1). Ditimbang 70 gram ekstrak etanol 96% semanggi kemudian disuspensikan dengan air sebanyak 700 mL, setelah itu dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut *n*-Heksana sebanyak 700 mL, di gojok dan didiamkan sampai terdapat 2 fase, fase *n*-Heksana ditampung dan fase air dilakukan fraksinasi ulang sampai 10 kali. Hasil filtrate yang ditampung diuapkan dengan *rotary evaporator Heidolph* G3 pada suhu 50 ^{o}C, kemudian dikeringkan di oven Memmert dengan suhu 40 ^{o}C.

Fase air dari proses terakhir dari fraksinasi *n*-Heksana, dilakukan proses fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dengan metode yang sama dengan proses fraksinasi *n*-Heksana, filtrate yang ditampung diuapkan dengan *rotary evaporator Heidolph* G3 pada suhu 50 ^{o}C, kemudian dikeringkan di oven Memmert dengan suhu 40 ^{o}C.

2.4 Pengukuran Ekspresi MHCII

Ditimbang fraksi *n*-heksana dan etil asetat masing-masing 50 mg, kemudian dicampur dengan 0,5% Tween 80 dan DMSO 0,5%, selanjutkan disuspensikan pada suhu kamar untuk menghasilkan larutan induk 5.000 µg/ml. Setiap sampel disaring menggunakan *Millipore* 0,22 µl. Larutan induk fraksi *n*-heksana dan etil asetat 5.000 µg/ml diencerkan dengan media komplit untuk menghasilkan konsentrasi akhir 62,5; 125; dan 250 µg/ml. Larutan sampel kemudian ditambahkan ke dalam *microplate* 24-*well* yang telah diisi dengan sel mikroglia HMC3 80% *confluence* selama 48 jam. Setelah itu medium komplit ditambahkan pada *microplate* 24-*well*, sel kemudian difiksasi dengan PFA 4% selama 15 menit. Kemudian dibilas dengan PBS selama 5 menit. Dibuang PBS, ditambahkan *blocking buffer* 300 µl dan ditunggu 20 menit. Dibilas dengan PBS, ditambahkan antibodi primer (*anti-rabbit* MHC II) 300 µl/*well* dan ditunggu 1 jam. Selanjutnya dibilas dengan PBS 3 x 5 menit, ditambahkan antibody sekunder (*anti-rabbit* FITC) 300 µl/*well*, ditunggu selama 45 menit dengan dilapisi aluminium foil. Kemudian, dibilas dengan PBS 3 x 5 menit. Intensitas fluoresensi MHC II pada sel mikroglia HMC3 divisualisasikan dengan CLSM dan *Olympus Fluoview Ver.4.2a. software* pada panjang gelombang 488 nm. Hasil kuantifikasi berupa ekspresi MHC II

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

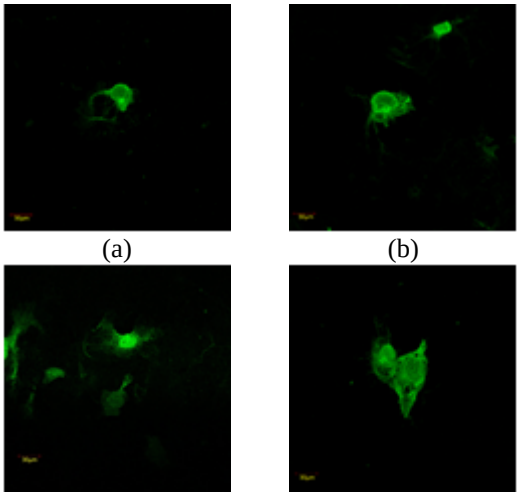
Neuroinflamasi pada sistem saraf pusat (SSP) terjadi karena kenaikan sel mikroglia yang teraktivasi M_1 *polarity* secara masif [14,22]. Neuroinflamasi muncul sebagai akibat dari kegagalan reaksi imun untuk menjaga homeostasis SSP [23]. Keadaan tersebut menyebabkan SSP mengalami keadaan patogenesis serta penumpukan senyawa-senyawa neurotoksik [24,25]. Penumpukan senyawa neurotoksik menginduksi produksi sitokin inflamasi secara tidak terkendali yang mengakibatkan sel neuron dalam SSP mengalami kerusakan bahkan kematian [23], dan mengarah pada penurunan fungsi kognitif [26,27,28].

Mikroglia yang mengalami aktivasi tersebut bertindak sebagai *agent presenting cell* (APC) dan mengekspresikan protein seperti MHC II untuk melakukan lokalisasi inflamasi. Keadaan tersebut disertai dengan aktivasi sel B serta terjadinya penurunan permeabilitas *blood brain barier* (BBB) akibat *metalloproteinase* yang dilepas mikroglia, sehingga mempermudah makrofag untuk memasuki SSP [29,30]. Ketidakmampuan mikroglia untuk melakukan eliminasi senyawa neurotoksik secara langsung menyebabkan makrofag melakukan fagositosis pada sel neuron yang mengalami kerusakan [23,25].

Pengujian *in vitro* aktivitas antineuroinflamasi pada fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat daun Semanggi dilakukan menggunakan metode ICC dan divisualisasikan menggunakan instrument CLSM. Metode ICC memungkinkan untuk mengevaluasi sel-sel dalam sampel tertentu yang dapat menghasilkan fluoresensi antigen yang diinginkan [31]. Hasil pengamatan metode ICC pada sel mikroglia HMC3 fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat dengan menggunakan instrument CLSM dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2 Semakin tinggi intensitas fluoresensi yang dihasilkan maka semakin tinggi ekspresi MHC II, demikian pula sebaliknya.

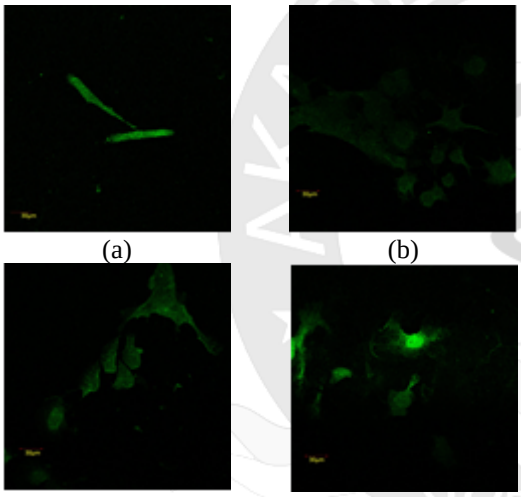
Hasil visualisasi dengan CLSM menunjukkan sel mikroglia HMC3 telah teraktivasi M_1 *polarity* setelah induksi oleh IFN-γ, yang ditunjukkan dengan morfologi sel yang ameboid, selain itu ditunjukkan dengan faktor petanda MHC II yang di ekspresikan dalam sel. Intensitas fluoresensi MHC II pada sel mikroglia HMC3 kemudian dianalisis secara kuantitatif dengan software Olympus Fluoview Ver.4.2a dan

diperoleh angka dengan satuan *arbitrary unit* (AU).



(a) (b) (c) (d)

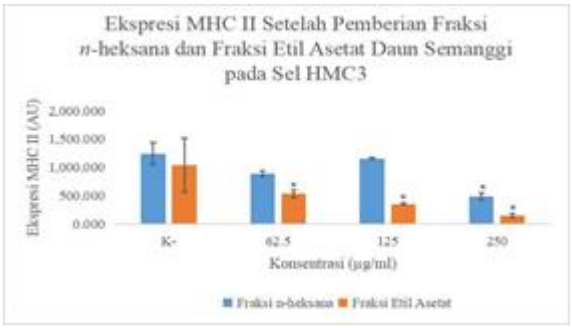
Gambar 1. Intensitas flouresensi MHC II fraksi *n*-heksana pada sel mikroglia HMC3 (a) kontrol negatif, (b) 62,5 µg/ml, (c) 125 µg/ml, (d) 250 µg/ml



(a) (b) (c) (d)

Gambar 2. Intensitas flouresensi MHC II fraksi etil asetat pada sel mikroglia HMC3 (a) kontrol negatif, (b) 62,5 µg/ml, (c) 125 µg/ml, (d) 250 µg/ml

Hasil kuantifikasi tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil uji *one way analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan pemberian fraksi *n*-heksana daun Semanggi dapat menurunkan ekspresi MHC II secara signifikan ($p<0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif pada konsentrasi 250 µg/ml, dimana kontrol negatif merupakan kontrol media sel dengan IFN-γ tanpa penambahan sampel fraksi pada perlakuan, sedangkan uji ANOVA dari fraksi etil asetat daun Semanggi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dapat menurunkan ekspresi MHC II pada semua konsentrasi dikarenakan memiliki nilai yang signifikan ($p<0,05$).



Gambar 3. Ekspresi MHC II pada sel mikroglia HMC3 setelah pemberian fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat daun Semanggi Setiap nilai dinyatakan sebagai rata-rata ± SD. *Berbeda signifikan dengan kontrol negatif pada $p<0,05$.

Berdasarkan hasil tersebut, diketahui bahwa fraksi etil asetat secara umum memberikan hasil ekspresi MHC II yang relatif lebih rendah daripada fraksi *n*-heksana di semua kelompok perlakuan. Fraksi etil asetat juga memberikan respon penurunan ekspresi MHC II yang linier terhadap peningkatan konsentrasi, sedangkan respon linier tidak terdapat pada fraksi *n*-heksana. Hal ini disebabkan terjadinya fenomena *non monotonic dose responses* (NMDR) pada pemberian fraksi *n*-heksana.

NMDR ditandai dengan nilai slope yang berubah-ubah pada grafik di beberapa titik pada rentang konsentrasi yang menjadi perlakuan. NMDR umumnya terjadi pada penelitian uji aktivitas secara *in vitro* dan penelitian dengan sampel hormon atau senyawa pengganti hormon. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan tingkat afinitas dan selektivitas hormon atau senyawa pengganti hormon dengan reseptornya, yang menyebabkan kesulitan dalam memperkirakan respon yang muncul dengan peningkatan konsentrasi [32,33,34,35,36]. Faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya NMDR ialah receptor downregulation dan desensitisasi reseptor. Hal ini dapat terjadi karena penambahan konsentrasi pada sampel dapat menyebabkan senyawa berikatan dengan reseptor lain selain *estrogen reseptor* (ER) atau membuat ER tidak sensitif dalam berikatan terhadap senyawanya. Namun, pada saat penambahan konsentrasi secara terus menerus dapat meningkatkan jumlah ER yang terdegradasi dan tidak sebanding dengan ER yang diproduksi, yang menyebabkan sel memproduksi ER secara masif dan dapat meningkatkan ikatan

senyawa dengan ER maupun respon aktivitasnya [36,37,38].

Uji korelasi selanjutnya dilakukan untuk mengetahui hubungan antara penambahan konsentrasi dengan intensitas fluoresensi MHC II. Uji korelasi dalam penelitian ini menggunakan uji korelasi Spearman, dikarenakan data bersifat non parametrik. Rentang nilai 0,00-0,24 menunjukkan korelasi sangat lemah, rentang nilai 0,25-0,49 menunjukkan korelasi lemah, rentang nilai 0,50-0,74 menunjukkan korelasi kuat, dan rentang nilai 0,75-1,00 menunjukkan korelasi sangat kuat [39]. Nilai plus atau minus menunjukkan tipe korelasi positif atau negatif. Hasil uji korelasi pada fraksi *n*-heksana didapatkan sebesar -0,216, sedangkan pada fraksi etil asetat didapatkan sebesar -0,821. Berdasarkan data tersebut, dapat diketahui bahwa korelasi paling baik ditunjukkan pada fraksi etil asetat dengan korelasi sangat kuat bernilai negatif. Sedangkan pada fraksi *n*-heksana, menunjukkan korelasi yang lemah dan bernilai negatif. Korelasi negatif ini sesuai dengan teori, dimana apabila terjadi peningkatan konsentrasi perlakuan, maka terjadi penurunan ekspresi MHC II.

Aktivitas antineuroinflamasi terjadi ketika senyawa fitoestrogen dalam fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat daun Semanggi menggantikan fungsi estrogen melalui mekanisme ER-*dependent* dan ER-*independent* [40,41,42]. Pada proses ini terjadi aktivasi sel mikroglia HMC3 pada alternative pathway dari kondisi resting state menjadi teraktivasi pada keadaan M_2 *polarity* dimana sel mikroglia HMC3 aktif bersifat antiinflamasi. Keadaan M_2 *polarity* ini menyebabkan penurunan ekspresi MHC II, sekaligus peningkatan ekspresi faktor petanda antiinflamasi seperti *arginase*-1 (Arg1) [10]. Peningkatan ikatan fitoestrogen ERβ pada jalur ER-*dependent nuclear-initiated estrogen signaling* dapat mengaktivasi ERβ pada sitoplasma untuk bertranslokasi dalam nukleus, yang menyebabkan beberapa mekanisme seperti penghambatan aktivasi *inhibitor of kappa B kinase* (IκK), penghambatan fosforilasi *inhibitor of kappa B* (IκB), penghambatan aktivasi NF-κB secara langsung, dan menginduksi *downregulation* gen *human leukocyte antigen* B27 (HLA-B27), yang menyebabkan penurunan produksi faktor petanda proinflamasi sekaligus meningkatkan produksi faktor petanda antiinflamasi [22,43,44]. Fitoestrogen pada daun Semanggi juga dapat bertindak melalui jalur ER-*independent* dengan menghambat produksi *nitrite oxide* (NO) dan *reactive oxygen species* (ROS) secara langsung

4. KESIMPULAN

Pemberian fraksi *n*-heksana daun Semanggi pada konsentrasi perlakuan 250 µg/ml, dan fraksi etil asetat daun Semanggi pada konsentrasi 62,5 µg/ml, 125 µg/ml dan 250 µg/ml dapat menurunkan ekspresi MHC II pada sel mikroglia HMC3, sehingga kedua fraksi tersebut berkhasiat sebagai antineuroinflamasi. Berdasarkan uji korelasi, aktivitas antineuroinflamasi terbaik ditunjukkan oleh fraksi etil asetat daun Semanggi.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

-.

6. PENDANAAN

-.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Radam, Rosidah.,Soendjoto, Mochamad Arief., dan Prihatiningtyas, Eva. 2016. Pemanfaatan Tumbuhan yang Berkhasiat Obat oleh Masyarakat di Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah* Jilid 2: 486-492.
2. Laswati, H. 2011. Green Clover Potentiates Delaying the Increment of Imbalance Bone Remodeling Process in Postmenopausal Women. *Folia Medica Indonesiana*, 47(2), 112-117.
3. Nurjanah., Azka, A., Abdullah, A. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Semanggi Air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*, 1(3), 152-158.
4. Ma'arif B, Agil, M, Laswati H. 2016. Phytochemical assessment on n-hexane extract and fractions of *Marsilea crenata* Presl.. leaves through GC-MS. *Trad. Med. J.* 21(2), 77-85.
5. Ma'arif, B., Agil, M., Laswati, H. 2018. Alkaline Phosphatase Activity of *Marsilea crenata* Presl.. Extract and Fractions as Marker of MC3T3-E1 Osteoblast Cell Differentiation. *J App Pharm Sci*, 8(03), 55-59.
6. Trisunuwati, P. 2016. The Role of Leaf Water Clover (Marsilea crenata) Squeeze towards Estrogen Blood Level and Uterine Histology in Rats (Rattus norvegicus). *J. Ternak Tropika*, 17(2), 1-7.
7. Alldredge, B. K., Corelli, R. L., Ernst, M. E., Guglielmo, B. J., Jacobson, P. A., Kradjan, W. A., Williams, B. R. 2013. Applied Therapeutics. PA : Lippincot Williams Dan Wilkins.

8. Jantaratnotai, N., Utaisincharoen, P., Sanvarinda, P., Thampithak, A. and Sanvarinda, Y., 2013. Phytoestrogens mediated anti-inflammatory effect through suppression of IRF-1 and pSTAT1 expressions in lipopolysaccharide-activated microglia. *International immunopharmacology*, 17(2), 483-488.
9. Villa, A., Vegeto, E., Poletti, A. and Maggi, A., 2016. Estrogens, neuroinflammation, and neurodegeneration. *Endocrine reviews*, 37(4), 372-402.
10. Cherry, J., Olschowka, J., and O'banion, Kerry. 2014. Neuroinflammation and M_2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *Journal of Neuroinflammation*, 11(98)
11. Mizuno, T., 2015. Neuron–microglia interactions in neuroinflammation. *Clinical and Experimental Neuroimmunology*, 6(3), 225-231.
12. Klaassen, C., Watkins, J.B, 2015, Casarett & Doull's: Essential of Toxicology, McGrawHill Medical: New York.
13. Paracha, H., Hussain, T., Tahir, M.Z., Yasmeen, A., Pervez, M.T., Sheik, A.A., Haider, A., Ali, R., Khan, W.A., 2015, Multifunctional DRB3, a MHC Class II Gene, as a Useful Biomarker in Small Ruminants: A Review, *Journal of Infection and Molecular Biology*, 3 (1).
14. Matt, S.M., Johnson, R.W., 2015, Neuro-Immune Dysfunction During Brain Aging: New Insights in Microglial Cell Regulation, *Current Opinion In Pharmacology*, 26, 96–101.
15. Chamniansawat, S., Chongthammakun, S., 2015, Inhibition of hippocampal estrogen synthesis by reactive microglia leads to down-regulation of synaptic protein expression. *NeuroToxicology*, 46, 25–34.
16. Agil Mengestuti, Burhan Ma'arif, Aemi Nyimas Yusma., 2018. Aktivitas anti osteoporosis fraksi *n*-heksan daun *Marsilea crenata* Presl. dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra mencit betina. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 1(2), 1-7.
17. Sari, D.K., D.H. Wardhani, dan A. Prasetyaningru., 2012. Pengujian Kandungan Total Fenolik Kappahycus Alvarezzi Dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik Dengan Variasi Suhu Dan Waktu. *Jurnal Jurusan Teknik, Universitas Hasyim Asyari*, 1(1), 40-44.
18. Joshi dan Nisha., 2019. An Overview on Common Organic Solvents and Their Toxicity. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 3(28).
19. Brooks, S. A., Dwek, M., dan Schumacher, U., 2012. Basic Immunochemistry for Light Microscopy.
20. Stanciu, S.G., Hristu, R., Boriga, R. and Stanciu, G.A., 2010. On the suitability of SIFT technique to deal with image modifications specific to confocal scanning laser microscopy. *Microscopy and Microanalysis*, 16(5), 515-530.
21. Yang, X., Qin, L., Liang, W., Wang, W., Tan, J., Liang, P., Xu, J., Li, S. and Cui, S., 2014. New bone formation and microstructure assessed by combination of confocal laser scanning microscopy and differential interference contrast microscopy. *Calcified tissue international*, 94(3), 338-347.
22. Au, A., Feher, A., McPhee, L., Jessa, A., Oh, S. and Einstein, G., 2016. Estrogens, inflammation and cognition. *Frontiers in neuroendocrinology*, 40, 87-100.
23. Chen, W.W., Zhang, X.I.A. and Huang, W.J., 2016. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Molecular medicine reports*, 13(4), 3391-3396.
24. Tang, Y. and Le, W., 2016. Differential roles of M_1 and M_2 microglia in neurodegenerative diseases. *Molecular neurobiology*, 53(2), 1181-1194.
25. Brett, F.M. and Kearney, H., 2018. Neuropathology correlates of cognitive assessments. *Irish Journal of Medical Science*, 187(3), 835-844.
26. Block, M.L., Zecca, L. and Hong, J.S., 2007. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(1), 57-69.
27. Tao, L., Zhang, F., Hao, L., Wu, J., Jia, J., Liu, J.Y., Zheng, L.T. and Zhen, X., 2014. 1- O-Tigloyl-1-O-deacetylnimbolinin B Inhibits LPS-Stimulated inflammatory responses by suppressing NF-κB and JNK activation in microglia cells. *Journal of pharmacological sciences*, 125, 364-374.
28. Su, X., Shang, L., Xu, Q., Li, N., Chen, J., Zhang, L., Zhang, L. and Hua, Q., 2014. Prevalence and predictors of mild cognitive impairment in Xi'an: a communitybased study among the elders. *PloS one*, 9(1).
29. Grimholt, U., 2015. MHC and Evolution in Teleosts. Biology, 5 (6).
30. Hort, J., Vališ, M., Kuča, K. and Angelucci, F., 2019. Vascular cognitive impairment: information from animal models on the pathogenic mechanisms of cognitive deficits. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2405.
31. Taylor, CR., and Rudbeck, L., 2013. Immunohistochemical Staining Methods. Dako Denmark : IHC Handbook.
32. Moriyama, K., Tagami, T., Akamizu, T., Usui, T., Saijo, M., Kanamoto, N., Hataya, Y., Shimatsu, A., Kuzuya, H. and Nakao, K., 2002. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(11), 5185-5190.
33. Tilghman, R.W., Cowan, C.R., Mih, J.D., Koryakina, Y., Gioeli, D., Slack-Davis, J.K., Blackman, B.R., Tschumperlin, D.J. and Parsons, J.T., 2010. Matrix rigidity regulates cancer cell growth and cellular phenotype. *PloS one*, 5(9), 2905.
34. Vandenberg, L.N., Colborn, T., Hayes, T.B., Heindel, J.J., Jacobs Jr, D.R., Lee, D.H., Shioda, T., Soto, A.M., vom Saal, F.S., Welshons, W.V. and Zoeller, R.T., 2012. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine reviews*, 33(3), 378-455.

35. Lagarde, F., Beausoleil, C., Belcher, S.M., Belzunces, L.P., Emond, C., Guerbet, M. and Rousselle, C., 2015. Non-monotonic dose-response Relationships and Endocrine Disruptors: A Qualitative Method of Assessment. *Environmental Health*, 14(1), 13.
36. Ma'arif, B., Agil, M. and Laswati, H., 2020. The Enhancement of Arg1 and Activated ERβ Expression in Microglia HMC3 by Induction of 96% Ethanol Extract of *Marsilea crenata* Presl. Leaves. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(5).
37. Modrall, J.G., Nanamori, M., Sadoshima, J., Barnhart, D.C., Stanley, J.C. and Neubig, R.R., 2001. ANG II Type 1 Receptor Downregulation Does Not Require Receptor Endocytosis or G Protein Coupling. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 281(3), 801-809.
38. Ismail, A. and Nawaz, Z., 2005. Nuclear Hormone Receptor Degradation and Gene Transcription: An Update. *IUBMB life*, 57(7), 483-490.
39. Gani, I. dan Amalia, S., 2015. Alat Analisis Data; Aplikasi Statistik untuk. Penentuan Bidang Ekonomi dan Sosial. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
40. Ososki, A.L. and Kennelly, E.J., 2003. Phytoestrogens: a review of the present state of research. *Phytotherapy Research*, 17(8), 845-869.
41. de Villiers, T.J., 2009. Bone health and osteoporosis in postmenopausal women. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 23(1), 73-85.
42. Yang, T.S., Wang, S.Y., Yang, Y.C., Su, C.H., Lee, F.K., Chen, S.C., Tseng, C.Y., Jou, H.J., Huang, J.P. and Huang, K.E., 2012. Effects of standardized phytoestrogen on Taiwanese menopausal women. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 51(2), 229-235.
43. Abu-Taha, M., Rius, C., Hermenegildo, C., Noguera, I., Cerda-Nicolas, J.M., Issekutz, A.C., Jose, P.J., Cortijo, J., Morcillo, E.J. and Sanz, M.J., 2009. Menopause and ovariectomy cause a low grade of systemic inflammation that may be prevented by chronic treatment with low doses of estrogen or losartan. *The Journal of Immunology*, 183(2), 1393-1402.
44. Cui, J., Shen, Y. and Li, R., 2013. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends in molecular medicine*, 19(3), 197-209.

Halaman kosong

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 7 No. 1, (Januari 2022), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Penelitian

Pengaruh Formulasi Nano Ekstrakterhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) Ungu Varietas Antin-3

Galuh Gondo Kusumo[1*)], Damaranie Dipahayu[2]
[1] Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya, Indonesia
[2] Departemen Farmasetika, Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya, Indonesia
[*)]E-mail: (kusumo.galuhgondo@akfarsurabaya.ac.id)

ABSTRAK

Daun ubi jalar ungu mengandung antosianin memiliki aktivitas atioksidan yang tinggi, namun belum banyak yang memanfaatkan. Untuk meningkakan aktivitas suatu produk bahan alam, formulasi nano parikel pada ekstrak bisa meningkakan asorbsi produk di saluran cerna. Namun, Formulasi suatu bahan alam yang digunakan untuk antioksidan dapat mempengaruhi aktivitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh formulasi nano ekstrak terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) varieas antin-3. Pembuatan nano ekstrak dilakukan dengan meode gelasi ionik sedangkan penetapan kadar antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menggunakan spekrofotometri visibel. Formulasi nano ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) varieas antin-3 mempengaruhi akivitas antioksidannya. Formulasi nano partikel pada ekstrak daun ubi jalar ungu mempengaruhi akivitas antioksidannya.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Antin 3, Nano Ekstrak.

The Effect of Nano Extract Formulation on Antioxidant Activity of 70% Ethanolic Extract of Purple Sweet Potato's Leaves (*Ipomoea batatas* L.) Antin-3 Variety

ABSTRACT

Purple sweet potato leaves contain anthocyanins with high antioxidant activity but are rarely used. To increase the activity of a natural product, nanoparticle formulation in the extract can be used. It can increase the absorption of the product in the gastrointestinal tract. However, the formulation of natural ingredients used for antioxidants can affect their activity. This study aimed to determine the effect of the nano extract formulation on the antioxidant activity of the leaf extract of purple sweet potato (Ipomoea batatas L.) antin-3 variety. The ionic gelation method carried out the manufacture of nano extracts. Meanwhile, the determination of antioxidant levels was carried out by the DPPH method using spectrophotometry Vis. The formulation of nano extract of purple sweet potato leaf (Ipomoea batatas L.) antin-3 variety affects its antioxidant activity. Nanoparticle formulation in purple sweet potato leaf extract affected its antioxidant activity.

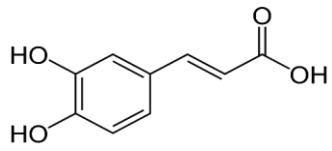
***Keywords**:Antioxidant, DPPH, Antin 3, Nano extract.*

1. PENDAHULUAN

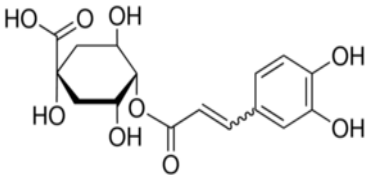
Aktivitas tinggi di luar ruangan menyebabkan paparan polusi udara, sinar ulraviolet yang tinggi sehingga dapat membuat tubuh terpapar radikal bebas secara berlebihan. Oleh karena itu peran antioksidan sangat penting untuk menghambat radikal bebas ini. Dalam pemenuhan anitoksidan ini, alam telah menyediakan berbagai jenis tanaman yang memiliki kandungan anioksidan yang tinggi [1], seperti misalnya ubi jalar ungu yang mengandung antosianin

Salah satu varietas ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang pernah dikembangkan oleh BALITKABI Malang, yang memiliki potesi besar untuk atioksidan adalah varietas antin-3. Pada pemaparan selanjutnya, daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) varietas atin-3 akan disebut sebagai daun antin-3. Mulai dari daun, tangkai dan umbinya memiliki kandungan antosianin dalam bentuk cyanidin dimana akivitas antioksidannya lebih kuat dibandingkan dengan vitamin E dan C [2]. Cyanidin dapat dengan cepat mengikat Reactive Oxygen Species (ROS) seperti hidrogen peroksida, oksigen reaktif dan hidroksil radikal. Sedangkan kandungan polifenolnya berupa asam

fenolat yang terdiri dari asam kafeat dan lima macam derivat asam kafeilkuinat, dimana derivat ini punya aktivitas yang sangat poten sebagai anti-influenza [3].

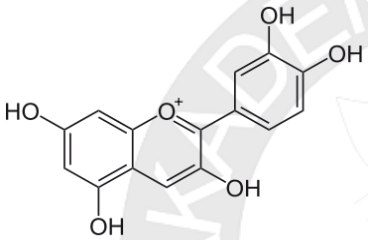


A



B

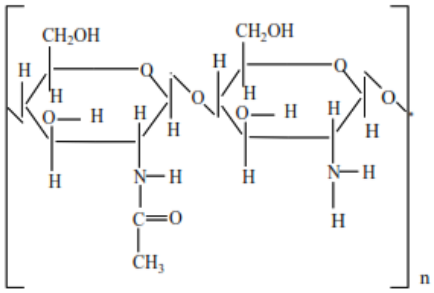
Gambar 1. a Caffeic acid b. 4-*O*-Caffeoylquinic acid (kandungan kimia *Ipomea batata* L.) [4]



Gambar 2. Struktur kimia antosianin tipe sianidin [4]

Polifenol memiliki stabilitas yang rendah karena mudah teroksidasi. Senyawa flavonoid terutama glikosida flavonoid mudah terhidrolisis di usus, sehingga efisiensi penggunaan antioksidan per oral tidak optimal [5]. Sistem penghantaran nanopartikel dibuat dengan cara mengenkapsulasi senyawa metabolit sekunder menjadi polimer [6]. Ukuran nanopartikel mampu mengantarkan senyawa aktif ke sel target. Oleh karena itu, pengurangan ukuran partikel akan meningkatkan luas permukaan dan kelarutan sehingga dapat meningkatkan kemampuan bioavailabilitas untuk berdifusi dan menembus lendir [7].

Dalam upaya peningkatan penghantaran obat dewasa ini, penerapan nano teknologi sangatlah ayak digunakan tidak hanya pada obat oral, namun juga obat topikal dan atau kosmetik, atau bahkan implant. Peggunaan nanoteknologi pada suatu sediaan menyebabkan disolusi, absorbsi maupun distribusi obat mejadi lebih baik dan lebih cepat [8]. Sedangkan nano partikel paling aman untuk penghantaran obat menurut irianto dan Muljanah adalah nano partikel kitosan [9].



Gambar 3 Strukur Kimia Kitosan [10]

Kitosan merupakan polimer dari 2-amino-2-deoksi-β-D-glukosa yang bisa diperoleh dengan cara mengolah kitin. Kitosan juga dapat membentuk sebuah membran yang berfungsi sebagai adsorben yang mampu mengikat zat-zat organik maupun anorganik [10]. Pada penelitian yang dilakukan oleh kurniasih dkk. [11] disebukan bahwa N-Metil kitosan memiliki akivitas antiksidan sedang dengan IC50 sebesar 145,398 ppm.

Adanya akivitas antioksidan inilah yang dapat mempengaruhi akivitas antiksidan dari ekstrak etanol daun antin-3. Maka penulis melakukan penelitian tentang pengaruh formulasi nano partikel ekstrak menggunakan kitosan terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% dau antin-3.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Bahan

Daun antin 3 didapatkan dari daerah kecamatan Genteng Bayuwangi. Sampel dikeringkan dengan diangin-anginkan kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan 100 mess. Etanol p.a., metanol p.a, dan asam asetat glasial (Merck), Akuades, DPPH dan kitosan (Sigma-Aldrich), Na-TPP (Merck).

2.2. Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific tipe genesys 10s uv-vis).

2.3. Persiapan Ekstrak

Daun Antin 3 bagian muda (berada pada urutan daun 4-6 dari pangkal batang) dipanen usia 3,5 bulan di daerah kecamatan Genteng Bayuwangi. Sampel daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada area yang tidak terkena matahari langsung. Kemudian diserbuk dan di ayak dengan 100 mess. Serbuk daun Antin-3 kering dibuat ekstrak kental dengan cara remaserasi kinetik menggunakan etanol 50, 70, dan 96 %

dengan perbandingan serbuk daun Antin-3: etanol 70 % = 1:10 [1].

Maserasi kinetik dilakukan dua kali, masing-masing selama 3 jam menggunakan *magnetic stirrer* 200 rpm. Maserat disatukan dan dikentalkan dengan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental.

2.4. Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Ubi Jalar Ungu dengan Metode DPPH

Masing-masing ekstrak ubi jalar ungu varietas antin 3 dibuat larutan uji dengan konsentrasi 25, 50, 100, 150, dan 200ppm dalam metanol. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding dibuat pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm.

Sebanyak 0,5 ml larutan uji ditambahkan 5,0 ml DPPH 0,004%, kemudian diinkubasi selama 30 menit dan dipayar dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. [10]. Blanko yang digunakan adalah 0,5 ml metanol ditambah 5,0 ml DPPH. % peredaman (I%) dihitung dengan rumus berikut.

$$I\% = 100\ (A_{blanko} - A_{sampel}) / A_{blanko}$$

Nilai IC50 dihitung dari persamaan regresi konsentrasi terhadap % peredaman (I%) masing-masing larutan uji.

2.5. Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Ubi Jalar Ungu dengan Metode DPPH

Nano partikel ekstrak dibuat dengan cara gelasi ionik yaitu interaksi gugus amino pada kitosan yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif. Nanopartikel ekstrak dibuat tiga perbandingan. Ekstrak yang digunakan dalam pembuatan nano ekstrak merupakan ekstrak terpilih (eksrak etanol 70% antin-3), dengan pertimbangan nilai IC50 ekstrak tertinggi dari 3 pelarut pengekstraksi yang digunakan.

Larutan ekstrak dibuat 2% dalam campuran etanol : aquadest (7:3); sedangkan larutan kitosan dibuat 0,2% dalam asam asetat 1 % dan larutan NaTPP 0,1% aquadest. Terdapat 3 formulasi yag dibuat dengan memvariasikan jumlah kitosan yang digunakan terlihat pada tabel 1 [6].

Tabel 1. Perbandingan konsentrasi ekstrak: kitosan:Na.TPP

	F1	F2	F3
Ekstrak	1	1	1
Kitosan	1	5	10
NaTPP	1	1	1

Pencampuran pertama dilakukan pada larutan ekstrak dengan larutan kitosan. Setelah homogen ditambahkan larutan NaTPP kemudian diaduk menggunakan *magetik stirrer* selama 60 menit [4].

Nano ekstrak yang didapatkan kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 25, 50, 100, 150, dan 200ppm dalam metanol, kemudian diuji antioksidannya menggunakan metode DPPH pada panjang gelombang 517nm.

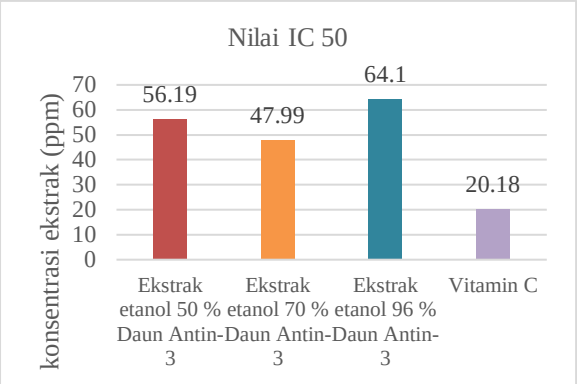
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi dari ketiga pelarut dapat dilihat pada gambar 4. Rendemen yang diperoleh dari ekstraksi ketiga pelarut sangat berbeda jauh dimana pelarut etanol 50% menghasilkan rendemen tertingi yakni sebesar 45,5 %. Sedangkan untuk pelarut etanol 70% dan etanol 96% berturut-turut sebesar 15,1% dan 4,2%. Dari data tersebut memperlihatkan bahwa sebagian besar kandungan kimia daun ubi jalar ungu varietas antin-3 merupakan senyawa polar, sehingga dengan peningkatan polaritas pelarut meningkatkan rendemen ekstrak yang diperoleh.

Pengujian antioksidan ekstrak daun antin-3 yang dilakukan didasarkan pada penelitian bouaziz *et al.* 2014 dimana DPPH dibuat pada konsentrasi 0,004% dalam metanol. Metode ini banyak digunakan untuk pengujian antioksidan karena cukup stabil [1]. DPPH akan mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning jika direduksi oleh donasi hidrogen atau elektron. Semua senyawa yang mampu mendonasikan atom hidrogen atau elektronnya ke DPPH dianggap sebagai antioksidan [10]

Skrining dilakukan pada 0,5 metanol yang ditambahkan 3,5 ml DPPH 0,004% menggunakan spektrofotometri *splitbeam* dari Thermo scientific tipe genesys 10s uv-vis pada panjang gelombang 350-700nm untuk mencari panjang gelombang maksimum dan serapan blanko DPPH 0,004%. Panjang gelombang maksimal yang didapatkan adalah 517nm [12,13,14]

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol 50%, 70%, dan 96% ditunjukkan pada gambar 5 dimana nilai IC50 dari ketiga ekstrak berturut-turut adalah 56,19 mg, 47,99mg dan 64,10mg. Sedangkan nilai IC50 asam askorbat yang digunakan sebagai pembanding adalah 20,18mg. Semakin kecil nilai IC50 dari suatu antioksidan, maka semakin tinggi akivitas antioksidannya [14]. Dengan demikan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun antin-3 memiliki akivitas antioksidan paling tinggi.



Gambar 4 Diagram Nilai IC50 ekstrak ubi jalar ungu varietas antin-3 dari etanol 50%, 70%, dan 96% dan nilai IC50 dari baku standar vitamin C atau asam askorbat [15]

Berdasarkan hasil antioksidan ketiga ekstrak, dipilih ekstrak etanol 70% daun antin-3 untuk diformulasikan menjadi nano ekstrak dengan metode gelasi ionik. Dari formulasi yang dibuat, didapatkan nilai anioksidan nano ekstrak etanol 70% daun antin-3 seperti ditunjukkan Tabel 2.

Tabel 2 Nilai IC50 nano ekstrak etanol 70% daun antin-3

Formula	Perbadingan jumlah Ekstrak : Kitosan : NaTPP	Nilai IC50 (ppm)
*F1	1 : 1 : 1	214,32
*F2	1 : 5 : 1	48,67
*F3	1 : 10 : 1	97,21
Ekstrak etanol 70% daun antin-3	-	47,99
Asam askorbat	-	20,18

* formula untuk membuat nanoekstrak etanol 70% daun antin-3 (formula 1, formula 2 dan formula 3)

Pada optimasi karakteristik nano partikel ekstrak etanol 70% daun antin-3, diketahui bahwa nilai ukuran partikel dari formula 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah 1.482 nm, 564nm dan 734nm. Sedangkan nilai zeta potensialnya berturut-turut adalah 5,19 Mv, 21,57 Mv DA 33,4 Mv. Ukuran partikel didapatkan tidak sesuai dengan teori yang disampaikan Fitri dkk. [6] dimana ukuran partikel nano parikel yang didapatkan akan semakin besar beriring semakin tingginya rasio kitosan. Formula 1 memiliki ukuran paling besar, hal ini bisa dijelaskan dengan nilai zeta potensial F1 yang rendah sehingga molekul ekstrak mudah saling tarik menarik meghasilkan ukuran partikel yang besar. Rasio kitosan yang digunakan tidak mampu menghasilkan zeta potensial yang diinginkan agar terentuk nano partikel ekstrak yang diinginkan [6,16].

Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa ukuran parikel menentukan akivitas atioksidan dari nano ekstrak etanol 70% daun antin-3. Semakin besar ukuran partikel suatu nano ekstrak semakin rendah akivitas antioksidannya. Namun pada formula F2, formulasi nano ekstrak tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan. Maka dapat disimpulkan bahwa berdasarkan antioksidannya, akivitas atioksidan kitosan tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak. Tetapi ukuran partikel nano ekstrak mempengaruhi aktivitas antioksidan antioksidan ekstrak etanol 70% daun antin-3.

4. KESIMPULAN

Dari data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa formulasi nano ekstrak menggunakan kitosan berpengaruh pada akivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun antin-3.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Akademi Farmasi Surabaya atas fasilitas dan dana penelitian yang diberikan.

6. PENDANAAN

-

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ebrahimzadeh M A, Nabavi S F, Nabavi S M, Eslami B, Asgarirad H. (2010). n vitro antioxidant and free radical scavenging activity of *Leonurus cardiaca subsp. Persicus*, *Grammosciadium platycarpum and Onosma demawendicum*. African J Biotechnol 2010; 9(51) :8865-8871.
2. Islam, S., Yamakawa, O., Ishiguro, K., Yoshimoto, M. (2003). Bioactive Compounds in Ipomoea batatas Leaves. Arta Holticulturae. 628: 693-699.
3. Humpherys B, Busath D D. Anti- Influenza Nutraceuticals: Antiviral and Anti-Inflammatory Effect. Andavances in Complementary & Alternative Medicine.2019: 4(3): 358-373.
4. Putri, A. I., Sundaryono, A. dan Chandra, I. N. (2018). Karakterisasi Nanopartikel Kitosan Ekstrak Daun Ubijalar (Ipomoea batatas L .) Menggunakan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*; 2(2); 203–207.
5. Juliantoni, Y., Hajrin, W. dan Subaidah, W. A. (2020). Nanoparticle Formula Optimization of

Juwet Seeds Extract (Syzygium cumini) using Simplex Lattice Design Method. *Jurnal Biologi Tropis*; 20(3); 416.

6. Fitri, D., Kiromah, N. Z. W. dan Widiastuti, T. C. (2020). Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan Dengan Metode Gelasi Ionik. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*; 5(1); 61.
7. Kawashima, Y., Yamamoto, H., Takeuchi, H., Kuno, Y.(2001). Mucoadhesive Nanoparticulate Systems for Peptide Drug Delivery. *Advance Drug Delivery Review*; 47(1); 39–54.
8. Husniati dan Oktarina, E. (2014). Sintesis Nano Partikel Kitosan Dan Pengaruhnya Terhadap Inhibisi Bakteri Pembusuk Jus Nenas , Jurnal Dinamika Penelitian Industri, 2014 : 25 (2): 89-95.
9. Irianto, H.E., Ijah Muljanah., Proses Dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Penghantar Obat. Squalen. 2011 : 6 (1) : 1-8.
10. Sanjaya, I., dan Yuanita, L., 2007. Adsorpsi Pb (II) oleh Kitosan Hasil Isolasi Kitin Dan Cangkang Kepiting Bakau (Scylla), J Ilmu Dasar, 8 (1) :30-36.
11. Kurniasih, M., Purwatia, P., Dewi, R.S., Fatimah, S. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan N-Metil Kitosan Berkelarutan Tinggi ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia, Vol. 14(1) 2018, 107-118.
12. Amel, B. Seddik, K., Shtaywy, A., Saliha, D., Mussa, A.Z., BentaharAssia, Saliha, D., Abderahmane, B., Smain, A. . (2014). Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity And Hypotensive Effect Of Algerian Azarole(Crataegus azarolus L.) Leaves Extracts. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS) 5(2) 2014 : 286-305.
13. Lei, M., Xu, M., Zhang, Z., Zhang, M. and Gao, Y. (2014). The Analysis of Saccharide in Black Garlic and its Antioxidant Activity. Advance Journal of Food Science and Technology 6(6): 755-760.
14. Prasad, M.P. (2014). In vitro phytochemical analysis and antioxidant activity of seeds belonging to Cucurbitaceae family.Indian Journal of Advances in Plant Research (IJAPR), Vol. 1(4): 13-18.
15. Dipahayu, D., Kusumo, G.G. (2020). Antioxidant Activity, Phenolic and Flavonoid Contents in The Leaves Extract of Purple Sweet Potatoes (Ipomoea batatas (L.)) Antin-3 Variety in Different Ethanol Concentration as a Solvent. *In The 3 rd Joint Conference Unair- USM, International Conference of Pharmacy and Health Sciences 2020 Non Proceedings*.
16. Dipahayu, D., Kusumo, G.G. (2021). Formulasi dan Evaluasi Nano Partikel Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Varietas Antin-3. J. Sains Kes. 2021. Vol 3 (6) 781-785.

Halaman kosong

Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 7 No. 1, (Januari 2022), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Review

Efektivitas Azitromisin Sebagai Terapi Covid-19

Nurul Hidayah[1*)], Denova Haryavany[1]
[1] Poltekkes Kemenkes Medan, Indonesia
[*)] E-mail: (nurul.hidayah3607@gmail.com)

ABSTRAK

Infeksi virus korona 2019 (COVID-19) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh SARS-CoV-2. Covid-19 telah dinyatakan sebagai pandemik oleh WHO, dimana skala penyebarannya penyakit terjadi secara global. Azitromisin tunggal dan kombinasinya dengan hidroksikloroquin telah diajukan sebagai salah satu pengobatan yang dapat meningkatkan prognosis COVID-19. Tujuan dari tinjauan untuk mengetahui penggunaan dosis dan berapa lama azitromisin beraktifitas pada pasien COVID-19. Metode penelitian ini menggunakan tinjauan literatur artikel melalui penelusuran internet dengan mengakses *database* dari situs *google scholar, pubmed*. Objek penelitian ini adalah artikel ilmiah yang dipublikasikan pada rentang waktu 2017-2021 dan berkaitan dengan efektivitas azitromisin sebagai salah satu terapi untuk mengobati infeksi Covid-19 pada manusia. Hasil penelitian studi literatur menunjukkan bahwa Azitromisin berpotensi sebagai salah satu terapi pada pasien COVID-19 baik tunggal maupun kombinasi. Durasi pemberian azitromisin rata-rata selama 5 hari dimana 500 mg sebagai *loading dose* dan diikuti 250 mg selama 4 hari berikutnya. Efektivitas Azitromisin baik tunggal maupun kombinasi dengan hidroksikloroquin (HCQ) menunjukkan efektivitas dalam menurunkan *viral load* dimana penurunannya dimulai pada hari ke-6 dan kesembuhan total pasien dicapai pada hari ke-10 sampai hari ke-12. Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa Azitromisin berpotensi sebagai salah satu terapi pada pasien COVID-19 baik tunggal maupun kombinasi.

Kata kunci : Efektivitas; Azitromisin; Terapi; COVID-19.

Effectiveness of Azithromycin As Therapy Covid-19

ABSTRACT

Corona virus infection 2019 (COVID-19) is an infectious disease caused by SARS-CoV-2. Covid-19 has been declared a pandemic by the WHO, where the scale of the spread of the disease occurs globally. Azithromycin alone and its combination with hydroxychloroquine has been proposed as a treatment that can improve the prognosis of COVID-19. The purpose of this review is to determine the use of doses and how long azithromycin is active in COVID-19 patients. This research method uses a literature review of articles through internet searches by accessing the database from the google scholar site, pubmed. The object of this research is a scientific article published in the period 2017-2021 and relates to the effectiveness of azithromycin as a therapy to treat Covid-19 infection in humans. The results of the literature study show that Azithromycin has the potential as a therapy in COVID-19 patients, either alone or in combination. The average duration of azithromycin administration was 5 days, of which 500 mg was the loading dose followed by 250 mg for the next 4 days. The effectiveness of Azithromycin either alone or in combination with hydroxychloroquine (HCQ) showed effectiveness in reducing viral load where the decline began on day 6 and complete recovery of the patient was achieved on day 10 to day 12. The conclusion of this study is that Azithromycin has the potential as a therapy in COVID-19 patients, either alone or in combination.

Keywords: *Effectiveness; Azithromycin; Therapy; COVID-19.*

1. PENDAHULUAN

Dunia dihebohkan dengan berita munculnya wabah pneumonia yang tidak diketahui sebab pastinya yang terjadi pada akhir 2019 tepatnya pada bulan Desember 2019. Wabah ini pertama kali ditemukan di kota Wuhan Provinsi Hubei China. Pada 29 Desember 2019, 4 kasus pertama dilaporkan terinfeksi *novel coronavirus* (2019-nCoV)-*infected pneumonia* (NCIP) telah diidentifikasi di Wuhan [19]. Pada awalnya data epidemiologi menunjukkan 66% pasien berkaitan atau terpajan dengan satu pasar *seafood* atau *live market* di Wuhan, Provinsi Hubei Tiongkok. Sampel isolat dari pasien diteliti dengan hasil menunjukkan adanya infeksi virus corona, jenis tipe baru yang diberi nama 2019 *novel Coronavirus* (Covid-19). Pada tanggal 11 Februari 2020, *World Health Organization* (WHO) memberi nama virus baru tersebut *Severa acute respiratory syndrome*

coronavirus-2 (SARSCoV-2) dan nama penyakitnya sebagai *Coronavirus disease 2019* (COVID-19) [11]. COVID-19 dapat menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan di paru-paru dalam kasus sedang hingga berat, penggunaan obat imunomodulasi bisa memberikan manfaat dalam pengobatan COVID-19. Gejala umum di awal penyakit adalah demam (83-98%), kelelahan atau myalgia, batuk kering (76-82%) dan sesak napas (31-55%) [10]. *World Health Organization* (WHO) telah menyatakan COVID-19 adalah pandemik, namun belum adanya obat khusus untuk penyakit ini maka disarankan beberapa obat terapi untuk penyakit COVID-19 yaitu Azitromisin dan hidroksikloroquin.

Azitromisin merupakan antibiotik makrolida yang dapat mencegah infeksi pernafasan parah pada pasien yang menderita pneumonia [1]. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa azitromisin dapat mencegah replikasi virus influenza H1N1 dan virus zika serta memiliki efek imunomodulator dan antiinflamasi pada penyakit pernapasan [3,17]. WHO belum membuat rekomendasi yang menyarankan penggunaan AZM dengan HCQ atau kloroquin sebagai pengobatan untuk COVID-19, tetapi beberapa organisasi nasional telah mengambil tindakan berbeda, yaitu merekomendasikan penggunaan AZM sebagai pengobatan lini pertama. Berdasarkan *American College of Cardiology*, telah memperingatkan tentang risiko pengobatan ini mengingat kurangnya bukti mengenai manfaatnya. Penggunaan obat ini pada pasien covid-19 berpotensi menimbulkan masalah keamanan yang serius karena semua obat ini memiliki potensi aritmogenik [16].

2. METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan studi literatur. Studi literatur merupakan penelitian yang dilakukan peneliti dengan cara mengumpulkan dan merangkum data dari beberapa hasil penelitian yang sudah ada sebelumnya. Pengumpulan data dilakukan melalui penelusuran artikel-artikel ilmiah yang dipublikasikan dalam jurnal minimal terakreditasi nasional dan internasional dalam rentang 5 tahun terakhir 2017-2021.

2.2 Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah literature atau referensi yang berkaitan dengan efektivitas azitromisin sebagai salah satu terapi untuk mengobati infeksi Covid-19 pada manusia dan memenuhi kriteria inklusi. Adapun kriteri inklusi pada penelitian ini adalah data sekunder dapat berupa hasil penelitian sebelumnya yang telah terpublikasi maksimal 5 tahun terakhir yaitu rentang waktu 2017-2021 dalam bentuk artikel penelitian (*research article*) yang sudah terindeks *google scholar* atau *pubmed*, metode eksperimental, *full paper*, dan memuat informasi tentang efektivitas (mencakup dosis, durasi terapi, hasil PCR atau *virus load* dan *outcomes*) azitromisin sebagai terapi covid-19 baik secara tunggal atau kombinasi, sedangkan kriteria eksklusinya ialah data sekunder yang dipublikasikan di luar rentang waktu 2017-2021.

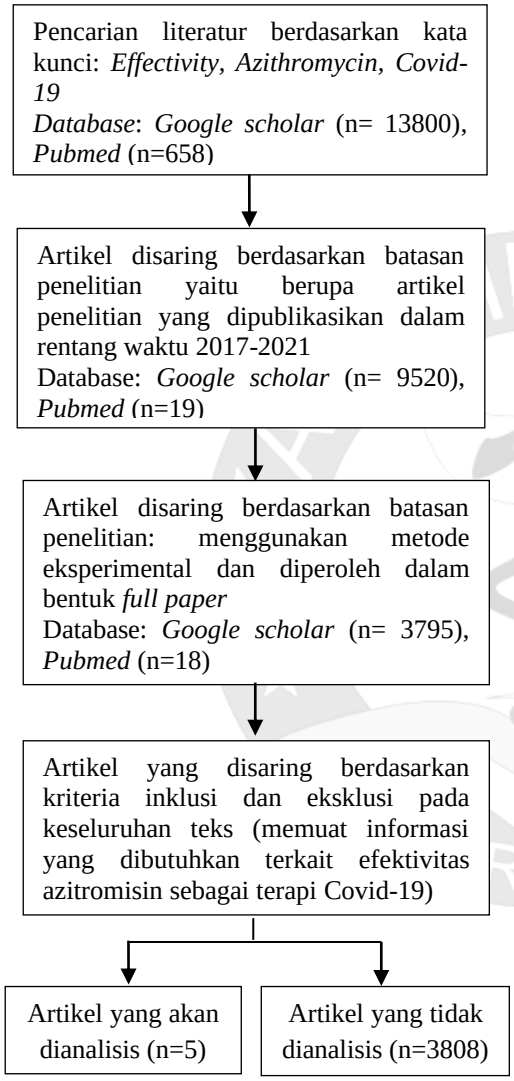
2.3. Prosedur Kerja

a. Melakukan penelusuran online melalui pangkalan data *google scholar d*an *Pubmed*
b. Penelusuran artikel dilakukan menggunakan kata kunci "efektivitas (*effectivity*)", "azitromisin (*azithromycin*)" dan "terapi (*therapy*)" Covid-19".
c. Melalukan sortir literatur yang diperoleh sesuai dengan kriteria inklusi.
d. Literatur yang diperoleh, diunduh dan diarsipkan
e. Literatur yang sudah diunduh dan diarsipkan kemudian dirangkum dan dilakukan kajian literatur tentang efektivitas azitromisin sebagai terapi pada pasien Covid-19.
f. Hasil kajian selanjutnya ditampilkan dalam bentuk tabel perbandingan literature yang memuat *author*, tahun publikasi, nama jurnal, latar belakang, tujuan penelitian, metode, hasil, dan kesimpulan.
g. Setelah itu, dilakukan kajian ffektivitasnya meliputi dosis, durasi terapi, serta hasil diagnostik pasien Covid-19 (*swab* antigen dan PCR) setelah mendapatkan terapi azitromisin.
h. Kajian literatur yang dilakukan selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk mengambil kesimpulan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pencarian dari *google scholar* dan *Pubmed* berdasarkan kata kunci diperoleh sebanyak 14.458 artikel dari seluruh database yang digunakan. Kemudian dilakukan seleksi artikel seperti yang terlihat pada Gambar 1, dan terpilih 5 artikel yang memenuhi kriteria yang telah ditetapkan sebelumnya. Berdasarkan lima artikel yang ditelaah, empat artikel menggunakan metode

uji *clinical trial* baik secara random dan non-random, sedangkan 1 artikel dilakukan secara retrospektif dengan menganalisa 1061 kasus di Prancis. Semua referensi yang diperoleh menunjukkan pengujian efektivitas azitromisin kombinasi dengan hidrokloroquin. Adapun ringkasan artikel yang dibahas dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Bagan pencarian artikel penelitian yang ditelaah

Penelitian pada artikel pertama menguji efektivitas kombinasi obat hidrokloroquin (HCQ), lopinavir (LpV) dan azitromisin (AZM) pada 111 pasien Covid-19. Kelompok kontrol diberikan HCQ dan LpV, sedangkan kelompok kasus diberikan kombinasi HCQ, LpV dan AZM 500 mg. Pemberian Azitromisin 500 mg dilakukan setiap hari. Parameter untuk menilai efektivitas terapi yaitu berdasarkan tanda vital, lama rawat, kebutuhan masuk ICU, kondisi pasien setelah keluar ICU (dilakukan *follow-up* selama 30 hari). Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kondisi umum dan tanda vital dari kedua kelompok uji. Tingkat saturasi oksigen yang meningkat signifikan, laju respirasi yang menurun, dan durasi lama rawat yang lebih singkat pada kasus kontrol. Tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap tingkat kematian pada kedua grup penelitian. Pasien yang meneriman AZM sebagai tambahan pada terapi HCQ dan LPV/r menunjukkan perbaikan kondisi yang lebih baik secara umum. Kombinasi HCQ+AZM menunjukkan keuntungan untuk individu yang diketahui mempunyai risiko terhadap kardiak aritmia [14].

Potensi efektivitas dari Azitomisin sebagai terapi Covid-19 juga ditunjukkan oleh keempat artikel lainnya. Pada artikel kedua, parameter uji untuk mengevaluasi efektivitas terapi menggunakan data *viral load*. Pada penelitian ini, subjek dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu terapi Kombinasi (HCQ + AZM 500mg pada hari pertama dan 250mg per hari untuk 4 hari berikutnya) sebanyak 6 pasien; pasien Kontrol (hanya diberikan AZM) sebanyak 16 pasien; dan pasien HCQ tunggal sebanyak 14 pasien. Dari seluruh pasien yang terlibat pada penelitian ini, diperoleh hasil sebanyak 100% (6 pasien) pada kelompok kombinasi HCQ dan AZM yang terkonfirmasi negatif virus COVID-19, sebanyak 2 pasien (12,5%) kelompok kontrol yang terkonfirmasi negatif dan sebanyak 8 pasien (57,1%) kelompok HCQ tunggal terkonfirmasi negatif. Meskipun ukuran sampelnya kecil (total 36 sampel), survei tersebut menunjukkan bahwa pemberian terapi HCQ secara signifikan menunjukkan adanya penurunan atau hilangnya *viral load* pada pasien COVID-19. Sebanyak dua puluh kasus dirawat pada penelitian ini dan menunjukkan penurunan yang signifikan dari *virus load* pada hari ke-6 dibandingkan dengan kontrol, dan membutuhkan durasi rata-rata yang jauh lebih singkat daripada yang dilaporkan pada literature lainnya untuk pasien yang tidak diobati. AZM yang ditambahkan ke HCQ secara signifikan lebih efisien untuk mengeliminasi virus dimana efeknya diperkuat dengan pemberian AZM [7]. Penelitian sebelumnya menunjukkan efek menguntungkan dari azitromisin dalam mengurangi *viral load* pasien rawat inap, mungkin mengganggu interaksi reseptor ligan/CD-147; namun, kemungkinan dampaknya terhadap invasi SARS-CoV-2 belum

dievaluasi. Selain efek yang mungkin dalam invasi, azitromisin menurunkan ekspresi beberapa metaloproteinase (hilir ke CD-147), menginduksi tanggapan anti-virus pada epitel bronkial manusia primer yang terinfeksi rhinovirus, mengurangi replikasi dan pelepasan virus [18].

Untuk pasien disertai pneumonia, diberikan tambahan antibiotik,seftriakson di dalam kombinasi HCQ dan AZM. Terapi tidak dimulai atau dihentikan jika terjadi prolongasi QTc (*Bazett's formula*). Bazett's formula merupakan salah satu pengukuran yang biasa dilakukan untuk memperoleh interval QT yang terkoreksi. Mekanisme yang terjadi pada infark miokard akut terkait dengan proses depolarisasi dan repolarisasi ini adalah terjadinya prolongasi interval QTc. Prolongasi interval QTc berkaitan dengan risiko kematian mendadak, morbiditas/ mortalitas kardiovaskular pada populasi umum dan sindrom koroner akut [5,9].

Tabel 1. Resume Penelaahan Artikel tentang efektivitas Azitromisin sebagai terapi Covid-19

Artikel	Artikel I	Artikel II	Artikel III	Artikel IV	Artikel V
Sumber	Sekhavati E, Jafari F, SeyedAlinaghi S, *et al*. Safety and effectiveness of azithromycin in patients with COVID-19: An open-label randomised trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(4):106143.	Gautret P, Lagier JC, Parola P, *et al*. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(1):105949.	Gautret P, Lagier JC, Parola P, *et al*. Clinical and microbiological effect of a combination of hydroxychloroquine and azithromycin in 80 COVID-19 patients with at least a six-day follow up: A pilot observational study. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101663.	M. Million, et al. Travel Million M, Lagier JC, Gautret P, *et al*. Early treatment of COVID-19 patients with hydroxychloroquine and azithromycin: A retrospective analysis of 1061 cases in Marseille, France. *Travel Med Infect Dis*. 2020;35:101738.	Rosenberg ES, Dufort EM, Udo T, *et al*. Association of Treatment With Hydroxychloroquine or Azithromycin With In-Hospital Mortality in Patients With COVID-19 in New York State. *JAMA*. 2020;323(24):2493-2502.
Obat yang digunakan	HCQ, Lpv dan AZM	HCQ dan AZM	HCQ dan AZM	HCQ dan AZM	HCQ dan AZM
Jumlah Pasien	111 pasien	36 pasien	80 pasien	1061 pasien	1438 Pasien
Metode penelitian	Kelompok kontrol (HCQ + LpV). Kelompok Kasus (HCQ + LpV+ AZM 500 mg).	Terapi Kombinasi (HCQ + AZM 500mg pada hari pertama dan 250mg per hari untuk 4 hari berikutnya) terdiri dari 6 pasien. Pasien Kontrol (AZM) terdiri dari 16 pasien. Pasien HCQ tunggal terdiri dari 14 pasien.	Pemberian Kombinasi 200 mg oral HCQ (3 kali sehari selama 10 hari) dan AZM (500 mg untuk hari pertama diikuti dengan 250 mg per hari untuk empat hari selanjutnya). Untuk pasien dengan pneumonia diberikan terapi AZM, HCQ dan seftriakson.	Pemberian Kombinasi HCQ dan AZM (500mg pada hari pertama diikuti 250mg setiap hari untuk empat hari berikutnya) sebelum komplikasi.	Terapi Kombinasi (HCQ+AZM) terdiri dari 735 pasien. Terapi HCQ tunggal terdiri dari 271 pasien. Terapi AZM tunggal terdiri dari 211 pasien. Tanpa diberikan terapi HQC ataupun AZM 221 pasien.
Parameter	Menggunakan parameter tanda vital, lama rawat, kebutuhan masuk ICU, Kondisi pasien setelah keluar ICU (*follow-up* selama 30 hari.	Transcription-PCR	qPCR	PCR	PCR

Hasil Diagnosis Tes	Kelompok kasus menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan kelompok kontrol.	Pada hari ke-6, kelompok kombinasi (6/6 pasien) sudah terkonfirmasi negatif; kelompok kontrol (2/16 pasien) negatif; kelompok terapi HCQ tunggal (8/14 pasien) terkonfirmasi negatif.	Sebanyak 83% pasien negative pada hari ke-7, 93% negatif pada hari ke-8, semua pasien negatif pada hari ke-12.	Sebanyak 973 Pasien menunjukkan hasil klinis yang baik dan kesembuhan virologi dalam 10 hari.	Kesembuhan pasien pada, terapi kombinasi (HCQ+AZM) sebanyak 54 pasien (19,9%), pada terapi HCQ tunggal sebanyak 21 pasien (10,0%), pada terapi AZM tunggal sebanyak 28 pasien (12,7%), dan pada pasien tanpa terapi sebanyak 28 pasien (12,7%).
Durasi Penggunaan	Kelompok kontrol menerima lopinavir 400/100 oral mg dua kali sehari dan hydroxychloroquine oral 400 mg sehari; kelompok kasus selain rejimen yang sama juga menerima oral azitromisin 500mg/hr.	HCQ dikombinasikan dengan AZM 500mg pada hari pertama dan diikuti 250mg per hari untuk empat hari berikutnya (5 hari)	Penggunannya kombinasi HCQ (selama 10 hari) dan AZM (selama 5 hari).	Penggunaan kombinasi 200 mg HCQ oral, tiga kali sehari selama sepuluh hari, dikominasi dengan lima hari AZM (500 mg pada hari pertama diikuti dengan 250 mg setiap hari).	Berlangsung selama 21 hari. pada hari pertama diberikan HCQ dan AZM (1-5 hari).

Keterangan:
HCQ : Hidroksikloroquin
AZM : Azitromisin
LpV : Lopinavir
PCR : *Polymerase Chain Reaction*
ICU : *Intensive Care Unit*

Informasi lainnya tentang efektivitas AZM diperoleh melalui penelitian dari 80 orang pasien Covid-19 [8]. Semua pasien menunjukkan perbaikan secara klinis, kecuali 1 orang pasien berusia 86 tahun yang meninggal, dan 1 orang pasien berusia 74 tahun yag masih di rawat di ICU. Penurunan cepat *viral load* nasofaring yang diuji dengan qPCR didapatkan pada 83% pasien yang terkonfirmasi negatif pada hari ke-7, dan 93% di hari ke-8. Jumlah pasien yang masih berpotensi menularkan (dengan nilai PCR Ct <34) terus menurun, sampai pada hari ke-12 semua pasien menunjukkan hasil negatif. Penurunan yang mencolok terjadi setelah 6 hari terapi. Setelah sepuluh hari, hanya terdapat dua pasien yang masih berpotensial menularkan dengan nilai *Cycle Threshold value* (nilai Ct) masing-masing 32 dan 29. Sampel kultur virus yang diambil dari nasofaring pasien menunjukkan hasil yang negatif sebanyak 97,5% pasien pada hari ke-5 terapi. Jumlah pasien yang masih berpotensi menular (dengan kultur positif) menunjukkan penurunan kasus lebih cepat setelah tiga hari pengobatan. Setelah lima hari pengobatan, masih terdapat dua pasien yang berpotensi menularkan. Pengobatan pada hari ke-8, menunjukkan hanya satu dari dua ini pasien yang masih berpotensi menularkan dan pada hari ke-9, semua pasien menunjukkan Ct yang sudah tidak lagi berpotensi menularkan. Pemberian kombinasi HCQ dan AZM sebelum komplikasi COVID-19 menunjukkan *safety* yang cukup aman dengan tingkat kasus kematian yang sangat rendah pada pasien. Kombinasi keduanya juga memberikan efek menguntungkan dalam mengurasi kasus penularan secara dini [8].

Penelitian lainnya (artikel ke-empat) menggunakan metode analisis kasus secara retrospektif dengan tujuan untuk mengetahui efek pengobatan awal pasien COVID-19 dengan penggunaan HCQ dan AZM. Sebanyak 1061 kasus pasien terkonfirmasi positif SARS-CoV-2 yang diamati pada penelitian ini. Pemberian kombinasi HCQ dan AZM (500 mg pada hari pertama diikuti 250 mg setiap hari untuk empat hari berikutnya) sebelum komplikasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pasien terkonfirmasi positif SARS-CoV-2 yang dirawat selama tiga hari

dengan rejimen HCQ (200 mg 3 kali sehari selama sepuluh hari) dan AZM (500 mg pada hari pertama diikuti 250 mg setiap hari untuk empat hari berikutnya) menunjukkan hasil klinis yang baik dan kesembuhan virologi pada 973 pasien dalam 10 hari (91,7%) terapi [12]. Pemberian kombinasi HCQ dan AZM sebelum komplikasi COVID-19 menunjukkan keamanan yang baik dengan tingkat kematian yang rendah pada pasien.

Efektivitas AZM sebagai terapi Covid-19 juga ditunjukkan oleh artikel kelima, dengan menggunakan metode studi kohort yang bertujuan untuk mengetahui pola peresepan HCQ dan AZM pada pasien COVID-19. Sebanyak 1438 kasus pasien COVID-19 yang dirawat inap di New York, dimana pasien yang menerima terapi kombinasi (HCQ+AZM) sebanyak 735 pasien; terapi HCQ tunggal sebanyak 271 pasien; dan terapi AZM tunggal sebanyak 211 pasien. Kasus pasien tanpa diberikan treatment HQC ataupun AZM sebanyak 221 pasien. Angka kematian di rumah sakit secara keseluruhan adalah 20,3%. Kemungkinan kematian untuk pasien yang menerima HCQ dan AZM 189/735 (25,7%), HCQ tunggal sebanyak 54/271 (19,9%), AZM tunggal sebanyak 21/211 (10,0%) dan tidak menggunakan kedua obat sebanyak 28/221 (12,7%). Pengobatan dengan HCQ, AZM atau keduanya dibandingkan dengan kasus pasien yang tidak menerima *treatment* menunjukkan hasil yang tidak signifikan terkait dengan perbedaan mortalitas di rumah sakit. Hal ini kemungkinan terjadi akibat keterbatasan dari desain observasi yang digunakan dalam menginterpretasi temuan ini [13].

Azitromisin adalah antibiotic makrolida yang aktivitasnya terhadap bakteri Gram positif sedikit lebih lemah dibanding eritromisin, tetapi lebih aktif terhadap bakteri Gram negatif seperti *Hemophilus influenzae*. Kadar plasma azitromisin sangat rendah, tapi kadarnya dalam jaringan jauh lebih tinggi. Waktu paruh azitromisin yang panjang dalam jaringan memungkinkan obat ini diberikan dalam dosis satu kali sehari. Azitromisin dapat digunakan untuk *Lyme disease [2]*. Penggunaan Azitromisin *loading dose* 500 mg diikuti dosis harian tunggal 250 mg selama 4 hari ke depan, biasanya digunakan tunggal atau di kombinasikan dengan antbiotik β-laktam.

Azitromisin menunjukkan sifat antivirus *in vitro* dan *in vivo* dan aktivitas Azitromisin. Azitromisin adalah antibiotik spektrum luas yang digunakan untuk pengobatan infeksi bakteri, saluran pernafasan, enterik dan genitourinari dan memiliki profil keamanan yang aman. Azitromisin diindikasikan untuk infeksi saluran pernafasan seperti bronkitias dan pneumonia. Konsentrasi minimum untuk azitromisin sebagian besar terhadap bakteri pathogen adalah ≤2.0 mg/L (2.67 µM). Kerja Azitromisin sebagai mekanisme antibakteri adalah pengikat ke 23S rRNA dari 50S subunit ribosom mikroorganisme, menghambat sintesis protein bakteri, dan menghambat perakitan 50S subunit ribosom. Azitromisin tidak disetujui untuk terapi antivirus tetapi telah disetujui untuk dipelajari secara *in vitro* dan dalam uji klinis untuk melawan beberapa virus [4]. Bukti klinis tentang efek antibakteri pada pneumonia yang didapat dari *community acquired pneumonia* (CAP) serta tindakan immonomodulasi dan antivirus sebagai alasan penggunaan azitromisin pada pasien COVID-19.

AZM sebagai terapi Covid-19 baik pada pemberian tunggal maupun kombinasi menunjukkan efektivitas yang baik terhadap pasien Covid-19 [15]. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan sampel rekam medis NCIP dari 138 pasien di RS Zhongnan Wuhan, cina. Dari tanggal 1-28 Januari 2020, dan di *follow-up* sampai tanggal 3 Februari 2020. Hampir semua pasien menerima terapi antivirus. Kebanyakan pasien menerima terapi antivirus (oseltamivir sebanyak 124), dan banyak yang menerima terapi antibakteri (moxifloxacin sebanyak 89); ceftriaxone sebanyak 34; azitromisin sebanyak 25 dan terapi glukokortikoid sebanyak 62. Pada akhir penelitian, sebanyak 47 pasien dipulangkan dan 6 pasien meninggal, dan sisanya masih dirawat dirumah sakit. Di antara mereka yang pulang berobat jalan (n = 47) dengan lama rawat di rumah sakit rata-rata adalah 10 hari [19]. AZM juga memiliki peran potensial dalam memberikan cakupan tambahan dari bakteri patogen pernapasan atas yang berpotensi dalam infeksi sekunder. Pada kebanyakan pasien dengan dugaan atau konfirmasi SARS-CoV-2, kerusakan paru berkolerasi dengan tingkat keparahan infeksi virus.

Azitromisin menunjukkan aktivitas in vitro terhadap SARS-CoV-2 dan dapat bekerja di berbagai titik siklus virus. Sifat imunomodulatornya mencakup kemampuan untuk menurunkan regulasi produksi sitokin, menjaga integritas sel epitel atau mencegah fibrosis paru. Penggunaan azitromisin dikaitkan dengan

penurunan angka kematian dan penurunan ventilasi pada infeksi virus lainnya. Sifat-sifat ini bermanfaat dalam pengobatan pasien Covid-19 [5,6]. Azitromisin menginduksi respon antivirus dalam sel epitel dengan meningkatkan kadar interferon, menurunkan replikasi dan pelepasan virus. Obat ini menurunkan ekspresi metalloproteinase (molekul yang berhubungan erat dengan CD147). Virus influenza A pada pasien asma dan konsentrasi glukosa yang tinggi secara *in vitro* meningkatkan ekspresi CD-147, menunjukkan kemungkinan korelasi komplikasi pada asma, diabetes militus dan kadar CD-147 secara klinis akibat infeksi SARS-CoV-2.

Azitromisin telah dinilai dalam penelitian observasional retrospektif terutama dalam kombinasi dengan hidroksikloroquin, yang telah terbukti tidak memberikan manfaat. Makrolida ini menghadirkan profil keamanan yang terkenal. Uji klinis yang akan datang akan menentukan peran azitromisin dalam COVID-19 (termasuk stadium penyakit yang menawarkan manfaat terbesar dan efek kombinasinya dengan obat lain) [6].

4. KESIMPULAN

Azitromisin berpotensi sebagai salah satu terapi pada pasien Covid-19 baik tunggal maupun kombinasi. Durasi pemberian AZM rata-rata selama 5 hari dimana 500 mg sebagai *loading dose* dan diikuti 250 mg selama 4 hari berikutnya. Efektivitas Azitromisin baik tunggal maupun kombinasi dengan HCQ menunjukkan efektivitas dalam menurunkan *viral load* dimana penurunannya dimulai pada hari ke-6 dan kesembuhan total pasien dicapai pada hari ke-10 sampai hari ke-12.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Medan yang telah memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

6. PENDANAAN

Penelitian ini tidak didanai oleh sumber Hibah manapun.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bacharier, L. B., Guilbert, T. W., Mauger, D. T., Boehmer, S., Beigelman, A., Fitzpatrick, A. M., Jackson, D. J., Baxi, S. N., Benson, M., Burnham, C. D., Cabana, M., Castro, M., Chmiel, J. F., Covar, R., Daines, M., Gaffin, J. M., Gentile, D. A., Holguin, F., Israel, E., Kelly, H. W., Martinez, F. D., 2015. Early Administration of Azithromycin and Prevention of Severe Lower Respiratory Tract Illnesses in Preschool Children With a History of Such Illnesses: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, *314*(19), 2034–2044.
2. Badan POM. 2021. Monografi Azitromisin. Tanggal akses 05 Mei 2021.
3. Bosseboeuf, Eve & Aubry, Maite & Nhan, Tuxuan & Pina, Jean & Rolain, Jean & Raoult, Didier & Musso, Didier. (2018). Azithromycin Inhibits the Replication of Zika Virus. Journal of Antivirals & Antiretrovirals. 10(1): 6-11.
4. Damle, B., Vourvahis, M., Wang, E., Leaney, J., & Corrigan, B. (2020). *Clinical Pharmacology Perspectives on the Antiviral Activity of Azithromycin and Use in*, *108*(2), 201–211.
5. Donsu, Y. C., & Hasmono, D. (2020). Tinjauan Azitromisin Pada Penyakit Virus Korona 2019 (COVID-19). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, *17*(2), 133–147.
6. Echeverría-Esnal, D., Martin-Ontiyuelo, C., Navarrete-Rouco, M. E., De-Antonio Cuscó, M., Ferrández, O., Horcajada, J. P., & Grau, S. (2020). Azithromycin in the treatment of COVID-19: a review. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, *19*(2), 147–164.
7. Gautret, P., Lagier, J. C., Parola, P., Hoang, V. T., Meddeb, L., Mailhe, M., Doudier, B., Courjon, J., Giordanengo, V., Vieira, V. E., Tissot Dupont, H., Honoré, S., Colson, P., Chabrière, E., La Scola, B., Rolain, J. M., Brouqui, P., & Raoult, D. (2020). Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International journal of antimicrobial agents*, *56*(1), 105949.
8. Gautret P, Lagier JC, Parola P, *et al*. Clinical and microbiological effect of a combination of hydroxychloroquine and azithromycin in 80 COVID-19 patients with at least a six-day follow up: A pilot observational study. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101663.
9. Jiménez Candil J, Martín Luengo C. QT interval and acute myocardial ischemia: past promises, new evidences]. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61(6):561-563.
10. Levani, Y., Prastya, A. D., & ... (2021). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Pilihan Terapi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, *17*(1), 44–57.
11. Makmun, A., & Ramadhani, N. S. (2020). Kajian Pustaka TINJAUAN TERKAIT TERAPI COVID -19. *Molucca Medika*. Volume 12 (2).
12. Million, M., Lagier, J., Gautret, P., Colson, P., Fournier, P., Amrane, S., Hocquart, M., & Mailhe, M. (2020). *Early treatment of COVID-19 patients with hydroxychloroquine*

and azithromycin : A retrospective analysis of 1061 cases in Marseille , France. *January*.

13. Rosenberg, E. S., Dufort, E. M., Udo, T., Wilberschied, L. A., Kumar, J., Tesoriero, J., Weinberg, P., Kirkwood, J., Muse, A., Dehovitz, J., Blog, D. S., Hutton, B., Holtgrave, D. R., & Zucker, H. A. (2020). Association of Treatment with Hydroxychloroquine or Azithromycin with In-Hospital Mortality in Patients with COVID-19 in New York State. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *323*(24), 2493–2502.
14. Sekhavati E, Jafari F, SeyedAlinaghi S, et al. Safety and effectiveness of azithromycin in patients with COVID-19: An open-label randomised trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(4):106143.
15. Silo, N. 2020. Gambaran Efektivitas Terapi Kombinasi Hidroklorokuin dan Azitromisin untuk Covid 19 (*Corona Virus Disease 2019*). *Skripsi*. Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
16. Sultana, J., Cutroneo, P. M., Crisafulli, S., Puglisi, G., Caramori, G., & Trifirò, G. (2020). Azithromycin in COVID-19 Patients: Pharmacological Mechanism, Clinical Evidence and Prescribing Guidelines. *Drug Safety*, *43*(8), 691–698.
17. Tran, D.H., Sugamata, R., Hirose, T., Suzuki, S., Noguchi, Y., Sugawara, A., Ito, F., Yamamoto, T., Kawachi, S., Akagawa, K.S., Ōmura, S., Sunazuka, T., Ito, N., Mimaki, M., Suzuki, K., 2019. Azithromycin, a 15-membered macrolide antibiotic, inhibits influenza A(H1N1) pdm09 virus infection by interfering with virus internalization process. J. Antibiot. (Tokyo). 72, 759–768.
18. Ulrich, H., Pillat, M.M., 2020. CD147 as a Target for COVID-19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. Stem Cell Rev. Reports 16, 434–440.
19. Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., Wang, B., Xiang, H., Cheng, Z., Xiong, Y., Zhao, Y., Li, Y., Wang, X., & Peng, Z. (2020). Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *323*(11), 1061–1069.

AKADEMI FARMASI
SURABAYA

AKADEMI FARMASI SURABAYA
Jl. Ketintang Madya No. 81 Surabaya
email : pharmasci@akfarsurabaya.ac.id
URL : pharmasci.akfarsurabaya.ac.id