



FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

PROSIDING SEMINAR NASIONAL FARMASI UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

Vol 1 Tahun 2023

AHMAD DAHLAN NATIONAL CONFERENCE IN PHARMACY

Topic: "Natural Product Development"

YOGYAKARTA, 10 SEPTEMBER 2022

Editor:

Dr. rer. nat. apt. Sri Mulyaningsih, M.Si.
apt. Syarifatul Mufidah, M.Sc.
apt. Verda Farida, M, Biotech
apt. Prita Anggraini Kartika Sari, M.Sc.
apt. Putri Rachma Novitassari, M. Pharm. Sci.

Fakultas Farmasi
Universitas Ahmad Dahlan
Yogyakarta

ARTIKEL

MOLECULAR DOCKING OF XIAMYCIN DERIVATIVES ON RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE AS A SARS-COV-2 VIRUS REPLICATION INHIBITOR

Hamnah Al Atsariyah¹, Dwi Utami^{2*}, Andika³

¹Undergraduate Program, Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

²Departement of Analytical and Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

³Faculty of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin, South Kalimantan, Indonesia

ABSTRACT

Xiamycin is a pentacyclic indolosesquiterpenoid derived from mangrove endophytes was studied in vitro to inhibit the replication of porcine epidemic diarrhea virus and human immunodeficiency virus. This study aimed to examine the potential pharmacological activity of xiamycin derivatives as an inhibitor of SARS-CoV-2 virus replication through molecular docking and analyze their pharmacokinetic and toxicity profiles.

The selection of comparison pharmaceutical agents used ChemDes. Xiamycin derivatives as test compounds and molnupiravir as inhibitors were screened for Lipinski's Rule of Five. The identification of RdRp as a molecular target was confirmed through the PASSonline program. The RdRp receptor was selected based on an assessment of receptor quality via the RCSB PDB and PDBsum. Minimization energy used Avogadro and Swiss PDB programs. Receptor and ligand were docked by Autodock. Visualization of molecular docking results with Biovia and Pymol. ADMET profile assessment using the ADMETlab 2.0 program.

This study shows that xiamycin E had the highest pharmacological potential compared to other xiamycin derivatives and molnupiravir with an energy affinity of -6.92 kcal/mol, an inhibitory constant of 8.41 M, and knows three key amino acid residues in the NiRAN domain, namely amino acid ASN 209, LYS 50, and ASP 218. ADMET prediction shows that xiamycin E is ideal for certain parameters and not ideal for certain parameters.

The xiamycin derivatives have the potential to be developed as an antiviral. Optimization of xiamycin E as a candidate for the RdRp inhibitor of SARS-CoV-2 requires further studies related to the structure tissue exposure/selectivity activity relationship.

Keywords: molecular docking, xiamycin, RdRp, SARS-CoV-2

INTRODUCTION

Currently, COVID-19 in the world has reached more than 501 million cases and caused more than 6 million deaths (Worldometer, 2022). In Indonesia, COVID-19 cases have reached more than 6 million cases and caused more than 155,000 deaths (SATGAS COVID-19, 2022). Various drugs are being investigated for COVID-19 treatment regimens, including molnupiravir.

Molnupiravir is a ribonucleoside analog that has been reported to have the potential as an

inhibitor of SARS-CoV-2 replication through inhibition of RNA-dependent RNA polymerase (RdRp).

Various medicinal compounds based on natural ingredients are being investigated for COVID-19 drugs. Indonesia has an abundance of marine natural products, including mangroves. The Ministry of Environment and Fores in 2021 has released the National Mangrove Map, it is known that the total area of Indonesia's mangroves is 3,364,076 Ha (KKP, 2021).

*Corresponding author. Email: dwi.utami@.pharm.uad.ac.id

Mangroves have a variety of endophytic microbes in their tissues. Endophytic microbes can produce various secondary metabolites (Radji, 2005). The bioactive secondary metabolites are useful as anti microbial, antiviral, anticancer, and anti-inflammatory (Shan et al., 2018).

Xiamycin is a pentacyclic indole sesquiterpenoid compound from marine actinomycetes, such as *Streptomyces* sp. GT20021503 isolated from *Bruguiera gymnorhiza* (Ding et al., 2010). Xiamycin C-E isolated from *Streptomyces* sp, HK18 has been studied in vitro to inhibit the replication of the porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) (Kim et al., 2016).

Structural protein and non-structural protein (Nsp) SARS-CoV-2 are important targets for COVID-19 therapy. The RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) or Nsp12 receptor is one of the targets in the research and development of COVID-19 drugs.

In this study, the investigation of xiamycin as the potential antiviral through inhibition of RNA-dependent RNA polymerase has been conducted by molecular docking. The results of this study are expected to provide a scientific basis for the development of mangrove endophyte bioactives through molecular pharmacology tests in the development of new antiviral drugs. The results of this study are expected to provide a scientific basis for the development of mangrove endophyte bioactives through molecular pharmacology tests in the development of new antiviral drugs.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The tools used in this research are hardware and software. The hardware used is a laptop with an Intel(R) Core(TM) i7-6500U CPU

@2.50GHz 1336x908p monitor, 4GB RAM, NVIDIA GeForce VGA, Windows 10 Education 64-bit. The various programs used are Chemdes, PDBsum, PASSonline, Avogadro, Swiss PDB, Notepad, AutoDock 4.2, Biovia Discovery Studio Visualizer, Open Babel, Pymol, and ADMET lab 2.0.

The materials used in this research are ligand and receptor structures. The structure of the test and comparison ligands used were taken from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> in the form of xiamycin A (CID: 38358410), xiamycin B (CID: 53469155), xiamycin C (CID: 127034219), xiamycin D (CID: 127034220), xiamycin E (CID: 127034221), xiamycin methyl ester (CID: 50898452), 19-Carbonyl-Xiamycin (CID: 156581618), 19-Methoxyl-Xiamycin (CID: 1565811619), molnupiravir (CID: 145996610). RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) protein structure (PDB ID: 7AAP) downloaded from <https://www.rcsb.org/>.

Ligand and Receptor Preparation

Ligand preparation was carried out to remove water molecules and add hydrogen atoms. Receptor preparation was carried out to separate the receptor and native ligand, remove water molecules, and add hydrogen atoms. Ligand and receptor preparation was carried out using the Biovia program.

Energy minimization

After preparation, energy minimization was carried out using the Avogadro application with parameters MMFF94 on the native ligand derivative xiamycin, and molnupiravir following the energy minimization guide <https://avogadro.cc/docs/menus/extensions-menu/>. The minimization of energy at the RdRp receptor (PDB ID: 7AAP) uses the Swiss PDB Viewer with GROMOS96 parameters following the

guidelines <https://spdbv.unil.ch/Swiss-PdbViewerManualv3.7.pdf>. Then, comparing the energy of the ligands and receptors before and after energy minimization.

Method validation

The validation of the molecular docking method was carried out by redocking the native ligand on the target protein using the AutoDock Tools 4.2 program. The redocking processes are carried out following the guidelines for using the Autodock program https://autodock.scripps.edu/wpcontent/uploads/sites/56/2021/10/AutoDock4.2.6_UserGuide.pdf. As explained in the manual that the RdRp receptor (PDB ID: 7AAP) has metal ions, it is necessary to add the AD4.1_bound.dat parameter in the grid settings. The data analyzed from the docking of native ligands is the root mean square deviation (RMSD), if RMSD <2 then the molecular anchoring method is declared valid and can be continued for anchoring test and comparison ligands.

Molecular Docking

Energy-minimized ligands and receptors were docked with the AutoDock Tools 4.2 program according to the Autodock program guide. The analysed data from the results of the docking of the test and comparison ligands is the docking score form of binding affinity and inhibition constants (K_i) from various anchoring poses. The lower the binding energy xiamycin derivatives against the RdRp receptor, the more potential this compound as an inhibitor of the SARS-CoV-2 RdRp enzyme compared to molnupiravir.

Identification and Visualization

The output of molecular docking is pose and docking score which can be seen from the DLG

file. From this output, it can be seen which pose the ligand with the lowest energy binds to the receptor. Residues from the molecular interactions of ligands and receptors can be seen by visualization through Biovia on the ligand-protein interactions menu. Furthermore, to see the binding pocket can be visualized in 3D using the Pymol program. 2D visualization can be used to identify amino acid residues and metals from xiamycin derivatives compared to molnupiravir. 3D visualization can be used to see binding pocket ligands to RdRp.

RESULTS AND DISCUSSION

Selection of Comparative Pharmaceutical Agents

The results of the molecular structural analysis of the antioxidant properties of antiviral agents conducted by Yasri & Wiwanitki (2022) (**Table I**) show that new antiviral drugs for COVID-19 RNA-dependent RNA polymerase targets that have the best antioxidant properties are molnupiravir and favipiravir. Because the antioxidant scores were equal, a molecular structural similarity analysis was performed to decide whether to use molnupiravir or favipiravir as a comparison for molecular docking of xiamycin derivatives.

The calculation of structure similarity with ChemFPS structure fingerprint Molecular ACCess System (MACCS) and the dice similarity method. The test results (Table II) showed that the structural similarity score of molnupiravir to xiamycin was higher than that of favipiravir to xiamycin. Based on the results of this similarity calculation, molnupiravir was chosen as a comparison for molecular docking of xiamycin derivatives.

Table I. Antioxidant Properties of Antivirus

Antiviral drugs	Data on molecular redox capacity		Antioxidant characteristics and overall (unit)
	Donor electron molekul (unit)	Molecular electron donor (unit)	
Molnupiravir	4,5	0.4	4.1
Favipiravir	4,5	0.4	4.1
Lopinavir	4.4	0.4	4.0
Remdesivir	4.4	0.4	4.0
Tenofovir	4.1	0.4	3.7
Galidesivir	4.4	0,3	4.1
Ribavirin	5.0	0.4	4.6

Table II. Structural Similarity Test Results

Similarity	Method	Fingerprint	Score
Molnupiravir-Xiamycin	Dice	MACCS	0.54
Favipiravir-Xiamycin	Dice	MACCS	0.46

Ligand Screening

The choice the ligand is closely related to the optimal result of molecular docking. Therefore, ligand screening was carried out based on Lipinski's Rule of Five Ro5 parameters.

The xiamycin and molnupiravir derivatives selected as test ligands and comparison ligands in this study were screened using the parameter Ro5. The Ro5 parameters used were molecular weight (MW) <500, partition coefficient (logP) <5, hydrogen bond donor (HBD) <5, hydrogen bond acceptor (HBA) <10. If two or more

Ro5 incompatibility occur, it is predicted that the compound cannot be used orally (Benet et al., 2016; Lipinski et al., 2012).

It is known that the Ro5 parameters of the xiamycin and molnupiravir derivatives in the Pubchem database processed in **Table III** showed no more than two Ro5 discrepancies, so it was predicted that the xiamycin and molnupiravir derivatives could be taken orally. Therefore, it was continued by testing the spectrum of activity of molnupiravir and xiamycin through the PASSonline program.

Table III. Lipinski Rule of Five Parameter

Senyawa	MW (< 500)	Log P (<5)	HBD (<5)	HBA (<10)	Ket
Xiamycin A	363.4	5.1	3	3	<input type="checkbox"/>
Xiamycin B	379.4	4.4	4	4	<input type="checkbox"/>
Xiamycin C	379.4	3.8	4	4	<input type="checkbox"/>
Xiamycin D	393.5	4.2	3	4	<input type="checkbox"/>

Xiamycin E	391.5	4.4	2	4	<input type="checkbox"/>
Xiamycin Methyl Ester	377.5	5.5	2	3	<input type="checkbox"/>
19 Carbonyl Xiamycin	377.4	4	3	4	<input type="checkbox"/>
19 Metoxyl Xiamycin	393.5	4.4	3	4	<input type="checkbox"/>
Molnupiravir	329.31	-0.8	4	7	<input type="checkbox"/>

Description: qualified ()

Ligand and Receptor Preparation

This RdRp receptor (PDB ID: 7AAP) has metal ions that play an active role in structural stability or reactions. The metal ions are Zn and Mg metals. Two zinc ions (Zn^{2+}) are needed to maintain the stability of the RdRp structure (Kirchdoerfer & Ward, 2019). Two magnesium ions (Mg^{2+}) play a role in RNA synthesis reactions as a trigger for the nucleophilic attack of the 3'-hydroxyl group of RNA on the phosphate of nucleotide triphosphate (NTP), while another Mg^{2+} ion facilitates the release of pyrophosphate (PPi) molecules (Carvalho et al., 2011). It is hoped

that by including these metal ions in the receptor as a molecular docking target during receptor preparation (**Figure 1**), the ligand will also bind to metal ions so that the RdRp mechanism in virus replication will be disrupted.

The native ligands GE6 and POP present at the 7AAP receptor were prepared for validation of the molecular docking method. The native 7AAP receptor ligand, xiamycin, and molnupiravir derivatives were prepared with the addition of a hydrogen atom using the Biovia program. The prepared ligand was then minimized with Avogadro.

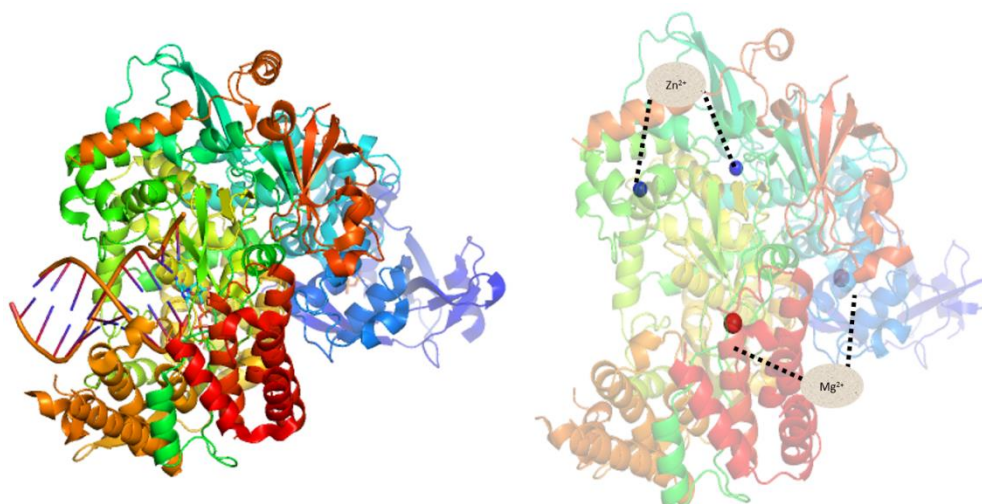


Figure 1. 7AAP Receptors Before and After Preparation

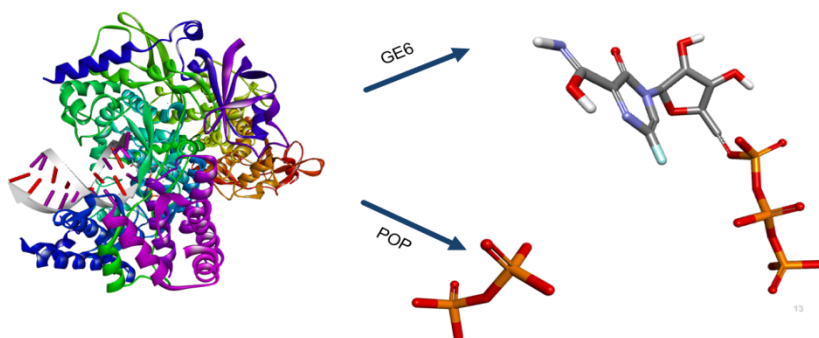


Figure 2. 7AAP Receptor Native Ligand Preparation

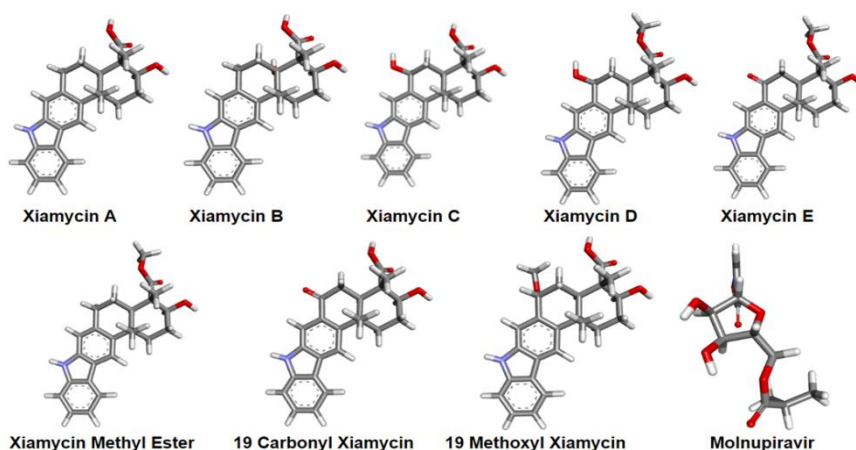


Figure 3. Test and Comparison Ligand Preparation Results

Method Validation

The validation of this molecular docking method was carried out by redocking the native ligand to the RdRp (7AAP) receptor. RMSD value < 2 indicates that the docking method is valid, and RMSD 2-3 indicates a deviation of the native ligand from the reference position, but still within the orientation limit. However, an RMSD value $> 3 \text{ \AA}$

indicates a significant position deviation or improper docking (Ramírez & Caballero, 2018).

The validation of the native ligand pyrophosphate method using a grid box center on the ligand setting resulted in a root mean square deviation (RMSD) of $1.43 < 2$. These results indicate that there is no significant position deviation from the native ligand after redocking (**Figure 4**), so it can be used for bonding tests and comparison ligands.

Table IV. Grid Box Redocking

Native Ligand	Number Grid Point			Coordinate			Spacing Grid Point (Å)	RMSD (Å)
	X	Y	Z	X	Y	Z		
GE6	40	40	40	99.517	96.001	112.613	0.375	4.25
POP	40	40	40	128.694	101.016	71.526	0.375	1.46

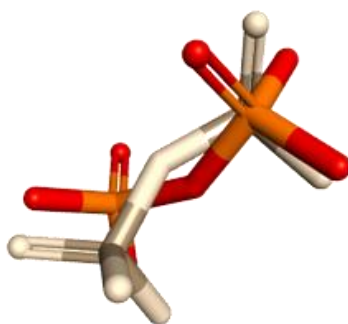


Figure 4. Superimpose Native Ligand POP

Molecular Docking

The molecular docking parameters analyzed were binding affinity, inhibition constant (K_i), and amino acid residues and metals. Good binding affinity can be seen from the negative Gibbs free energy (ΔG) value because the level of protein-ligand association is determined by the magnitude of the negative ΔG . The value of ΔG correlates with the stability of a given protein-ligand complex or alternatively the binding affinity of the ligand to a receptor (Du et al., 2016).

The value of G is directly proportional to the value of K_i . The K_i value is the inhibitor concentration needed to reduce half of the enzyme activity. The smaller the K_i value, the stronger ligand effect on the receptor (Balle, 2016). From the molecular docking results which can be seen in **Table V**, it is known that xiamycin E showed the best results because it has binding energy with an ΔG of -6.92 kcal/mol and an inhibition constant (K_i) of 8.41 μM .

Table V. Affinity Energy Value and Inhibition Constant

Rank	Compound	Binding affinity (kcal/mol)	Inhibition Constant (μM)
1	Xiamycin E	-6.92	8.41
2	Xiamycin D	-6.70	12.27
3	19 Carbonyl Xiamycin	-6.62	13.98
4	Xiamycin Methyl Ester	-6.58	14.96
5	Xiamycin A	-6.57	15.32
6	Xiamycin C	-6.38	20.93
7	Xiamycin B	-6.27	25.38
8	19 Methoxyl Xiamycin	-6.27	25.51
9	Molnupiravir	-4.55	460.42

Visualization and Identification of Results

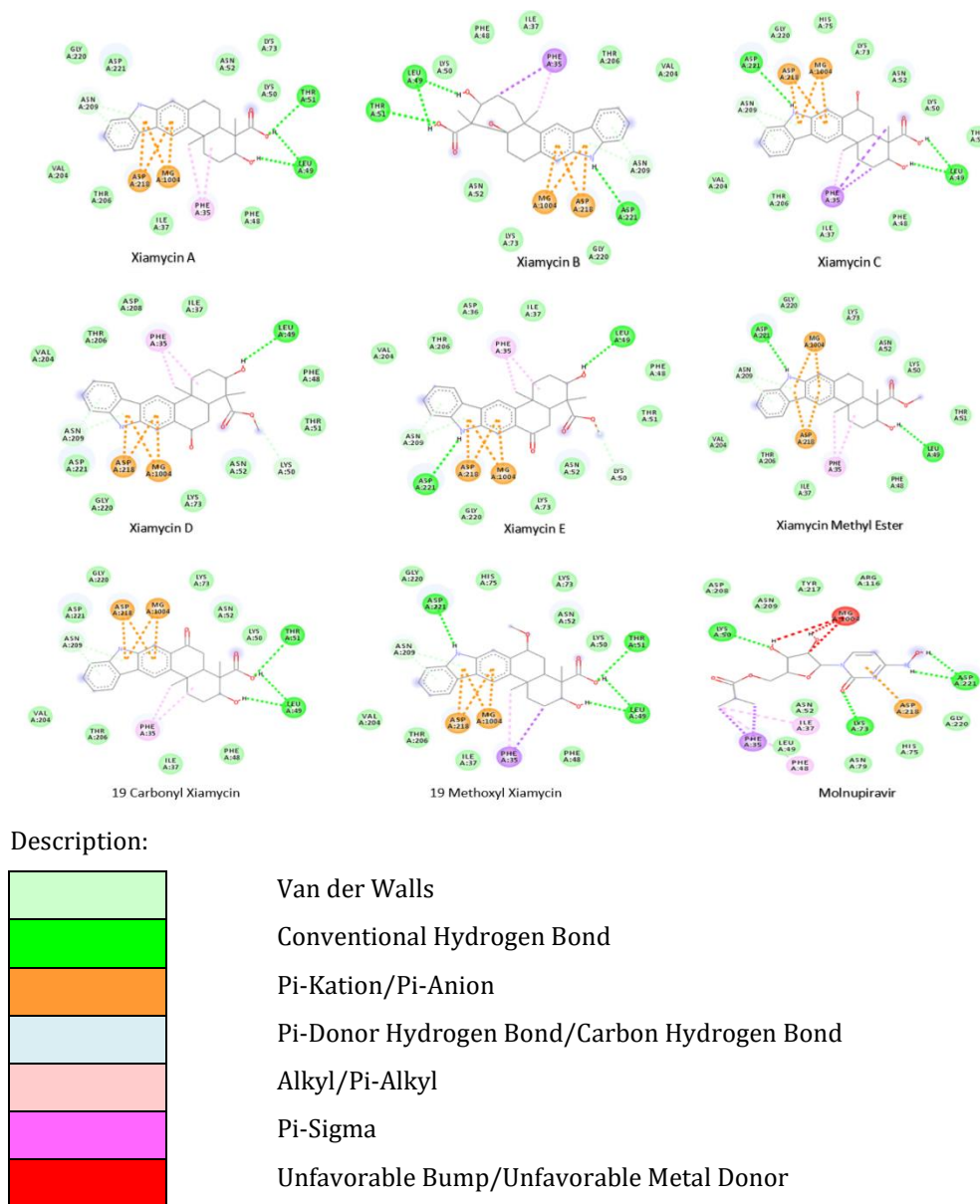


Figure 5. Molecular Docking 2D Visualization

Xiamycin E which has the lowest binding affinity and inhibition constant is known to have seven types of residues formed from different types of bonds. The residue ASP 218 was formed in the presence of pi-anion interactions, MG 1004 was formed in the presence of pi-cation interactions,

ASP 221 and LEU 49 were formed in the presence of conventional hydrogen bonds. The residue of PHE 35 was formed in the presence of pi-alkyl interactions. The residue ASN 209 is formed by the interaction of pi-hydrogen donor bonds and LYS 50 with hydrocarbon bonds.

Table VI. Interaction Residue Classification

Rank	Compound	Hydrogen Bond	Electrostatic Interaction	Hydrofobic Interaction
1	Xiamycin E	ASP 221, LEU 49, LYS 50, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
2	Xiamycin D	LEU 49, LYS 50, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
3	19 Carbonyl Xiamycin	THR 51, LEU 49, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
4	Xiamycin Methyl Ester	ASP 221, LEU 49, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
5	Xiamycin A	THR 51, LEU 49, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
6	Xiamycin C	ASP 221, LEU 49, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
7	Xiamycin B	ASP 221, LEU 49, THR 51, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
8	19 Methoxyl Xiamycin	ASP 221, THR 51, LEU 49, ASN 209	ASP 218 , MG 1004	PHE 35
9	Molnupiravir	ASP 221, LYS 50, LYS 73	ASP 218 , MG 1004	PHE 35

The residue variations can be classified into three, namely: hydrogen bonding (ASP 221, LEU 49, ASN 209, and LYS 50), electrostatic interactions (ASP 218 and MG 1004), and hydrophobic interactions (PHE 35). In the aspect of bond strength, it is known that hydrogen bonds > electrostatic interactions > hydrophobic interactions (Biovia, 2019). Hydrogen bonding is

the most important bond in the stability of the ligand binding to the receptor. Hydrogen bonding can also increase the binding affinity of the ligand (Williams & Ladbury, 2003; Zhou et al., 2012). These binding variations and interactions contribute to the affinity of the ligand and receptor on the binding pocket of xiamycin E to RdRp (**Figure 6**).

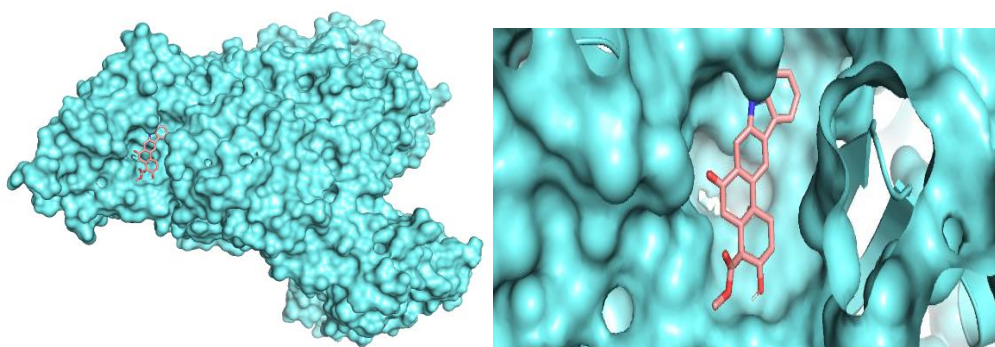


Figure 6. Xiamycin E Binding Pocket 3D Visualization against RdRp 7AAP

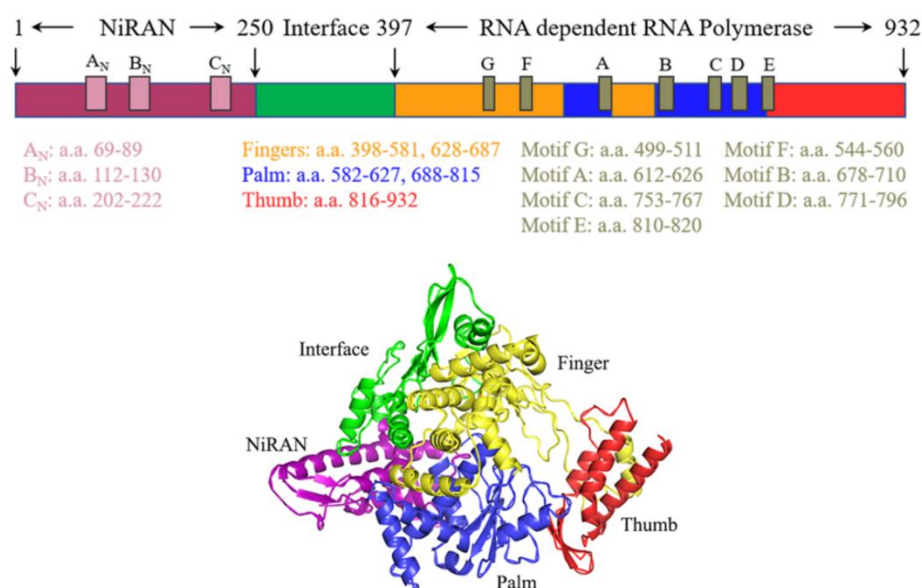


Figure 7. SARS-CoV-2 Nsp-12 domain (Zhang et al., 2020)

The docking coordinates used in the docking of the xiamycin and molnupiravir derivatives are the coordinates of the native ligand pyrophosphate. The crystallographic structure of RdRp 7AAP has a native pyrophosphate ligand located at the catalytic site of the nidovirus RdRp-associated nucleotidyltransferase (NiRAN) which is coordinated and stabilized by key amino acids such as ASN 209, ASP 218, LYS 50, LYS 73, and ARG 116 (Naydenova et al., 2021; Shannon et al., 2022).

NiRAN is one of the domains in Nsp12. Nsp12 consists of NiRAN, In-phased, and polymerase domains. The NiRAN domain contains 1-250 amino acid strands. The inter-phase domain contains the 251-397 amino acid strand. The polymerase domain consists of the finger (fingers), palm (palm), and thumb (thumb) domains. The domain fingers are built with amino acids 398–581 and 628–687, the palm domain is amino acids 582–627 and 688–815, and the thumb domain contains amino acids 816–919.

The results of the amino acid analysis showed that the key amino acids that appeared in xiamycin E were LYS 50, ASN 209, and ASP 218.

The key amino acids that appeared in molnupiravir were LYS 50, LYS 73, and ASP 218. The amino acid residues LYS 50, LYS 73, and ASN 209 are formed by hydrogen bonding, then ASP 218 is formed by electrostatic interactions. Although xiamycin E and molnupiravir both produce three key residues, the binding affinity and K_i values of xiamycin E are lower than that of molnupiravir.

In addition, no unfavorable bond was found in the interaction of xiamycin E with RdRp as was the case with molnupiravir. This bond is not beneficial because it reduces the stability of the complex interactions due to repulsion between atoms and molecules (Dhorajiwala et al., 2019). Judging from the assessment of the docking parameters studied, xiamycin E was chosen as the best docking result and then the ADMET profile was assessed. The balance of clinical dose, efficacy, and toxicity of a drug candidate is not only correlated with its potency/specificity to its molecular target through the structure-activity relationship (SAR). Aspects of exposure/selectivity to disease target organs and normal organ structure-tissue exposure/selectivity relationship

(STR) also need to be comprehensively understood.

Structure–tissue exposure/selectivity–activity relationship (STAR) studies can be used in the drug optimization process (Sun et al., 2022).

Molecular docking studies in this study prove the specificity of xiamycin to RdRp, but it is not known how selective it is against other molecular targets. The ADMET study in this study proved that the pharmacokinetic profile of xiamycin E was not optimal and had toxic potential.

In general, the results of this study indicate that xiamycin derivatives have the potential as inhibitors of SARS-CoV-2 virus replication and it is known that xiamycin E has the potential to be the best inhibitor based on molecular docking. ADMET prediction results indicate that the pharmacokinetic profile of xiamycin E is not ideal and has potential toxicity. Therefore, further studies related to STAR can be used in the process of optimizing xiamycin E as an inhibitor of SARS-CoV-2 virus replication in order to obtain optimal efficacy, ideal pharmacokinetic profile, and low potential toxicity.

CONCLUSION

Based on the results of this study, it is known that the xiamycin derivative has the potential to be developed as an RNA-dependent RNA polymerase inhibitor with energy affinity parameters (-6.92 - -6.27 kcal/mol) and inhibition constant (8.41 – 25.38 μ M) which is better than molnupiravir. Xiamycin E had the best docking parameters with an affinity energy of -6.92 kcal/mol, an inhibition constant of 8.41 M, and three key amino acid residues of the NiRAN domain (ASN 209, LYS 50, and ASP 218). This finding is useful to identify the potency of xiamycin as RNA-dependent RNA polymerase inhibitor.

Further research is needed to identify xiamycin derivatives specificity as RNA-dependent RNA polymerase inhibitor. to optimize pharmacological potential, improve the pharmacokinetic profile, and reduce the toxicity of xiamycin E through STAR studies. This study is the first step for the development of bioactive mangrove endophytes in COVID-19 drug research.

ACKNOWLEDGMENT

Special thanks to Prof. Dr. Apt. Nurkhasanah, M. Si who has guided and given much advice in this research.

REFERENCES

- Balle T, L. T. (2016). Molecular Recognition. Di dalam Strømgaard K, Krogsgaard-Larsen P, Madsen U (Eds.), Textbook of Drug Design and Discovery (5th ed.). CRC Press.
- Benet, L. Z., Hosey, C. M., Ursu, O., & Oprea, T. I. (2016). BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 101, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007>
- Biovia. (2019). *Comprehensive Modeling and Simulations for Life Sciences. Dassault Systemes.* https://crrd.kmu.edu.tw/images/studyonline/108.03.19-%0ADiscovery_Studio_%25E8%25A8%2593%25E7%25B7%25B4%25E8%25AA%25B2%25E7%25A8%258%0AB_20190319.pdf
- Carvalho, A. T., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2011). The Catalytic Mechanism of RNA Polymerase II. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 7(4), 1177–1188.
- Dhorajiwala, T. M., Halder, S. T., & Samant, L. (2019). Comparative in Silico Molecular Docking Analysis of l-threonine-3-Dehydrogenase, a Protein Target Against African Trypanosomiasis using Selected Phytochemicals. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(3), 101–108.
- Ding, L., Münch, J., Goerls, H., Maier, A., Fiebig, H. H., Lin, W. H., & Hertweck, C. (2010). Xiamycin, a Pentacyclic Indolosesquiterpene with Selective anti-HIV Activity from a Bacterial Mangrove Endophyte. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(22), 6685–6687. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.09.01>

- Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., Ji, X. L., & Liu, S. Q. (2016). Insights into protein–ligand interactions: Mechanisms, models, and methods. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(2), 1–34. <https://doi.org/10.3390/ijms17020144>
- Kim, S. H., Ha, T. K., Oh, W. K., Shin, J., & Oh, D. C. (2016). Antiviral Indolosesquiterpenoid Xiamycins C-E from a Halophilic Actinomycete. *Journal of Natural Products*, *79*(1), 51–58. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00634>
- Kirchdoerfer, R. N., & Ward, A. B. (2019). Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors. *Nature Communications*, *10*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10280-3>
- KKP. (2021). *Kondisi Mangrove di Indonesia*. Direktorat Pendayagunaan Pesisir Dan Pulau-Pulau Kecil. <https://kkp.go.id/djprl/p4k/page/4284-kondisi-mangrove-di-indonesia>
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2012). Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviewsrug Delivery Reviews*, *64*, 4–17.
- Naydenova, K., Muir, K. W., Wu, L. F., Zhang, Z., Coscia, F., Peet, M. J., CastroHartmann, P., Qian, P., Sader, K., Dent, K., Kimanius, D., Sutherland, J. D., & Löwe, J., Barford, D., & Russo, C. J. (2021). Structure of the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase in the presence of favipiravir-RTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.2021946118>
- Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Pharmaceutical Sciences and Research*, *2*(3), 113–126.
- Ramírez, D., & Caballero, J. (2018). Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? *Molecules*, *23*(5), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules23051038>
- SATGAS COVID-19. (2022). *Peta Sebaran COVID-19*. <https://covid19.go.id/peta-sebaran-covid19>
- Shan, W., Zhou, Y., Liu, H., & Yu, X. (2018). Endophytic Actinomycetes from Tea Plants (*Camellia sinensis*): Isolation, Abundance, Antimicrobial, and PlantGrowth-Promoting Activities. *BioMed Research International*.
- Shannon, A., Fattorini, V., Sama, B., Selisko, B., Feracci, M., Falcou, C., Gauffre, P., El Kazzi, P., Delpal, A., Decroly, E., Alvarez, K., Eydoux, C., Guillemot, J. C., Moussa, A., Good, S. S., La Colla, P., Lin, K., Sommadossi, J. P., Zhu, Y., ... Canard, B. (2022). A dual mechanism of action of AT-527 against SARS-CoV-2 polymerase. *Nature Communications*, *13*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28113-1>
- Sun, D., Gao, W., Hu, H., & Zhou, S. (2022). Why 90% of clinical drug development fails and how to improve it? *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *12*(7), 3049–3062. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.02.002>
- Williams, M. A., & Ladbury, J. E. (2003). Hydrogen bonds in protein–ligand Complexes. Protein–ligand Interactions: from Molecular Recognition to Drug design.
- Worldometer. (2022). *COVID-19 Coronavirus Pandemic*. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
- Yasri, S., & Wiwanitki, V. (2022). Molnupiravir, Favipiravir and Other Antiviral Drugs with Proposed Potentials for Management of COVID-19: a Concern on Antioxidant Aspect. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, *13*(1), 1–4.
- Zhang, W. F., Stephen, P., Stephen, P., Thériault, J. F., Wang, R., & Lin, S. X. (2020). Novel Coronavirus Polymerase and Nucleotidyl-Transferase Structures: Potential to Target New Outbreaks. *Journal of Physical Chemistry Letters*, *11*(11), 4430–4435. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.0c00571>
- Zhou, W., Yan, H., & Hao, Q. (2012). Analysis of Surface Structures of Hydrogen Bonding in Protein–Ligand Interactions Using the Alpha Shape Model. *Chemical Physics Letters*, *545*, 125–131.

ARTIKEL

THE EFFECTIVENESS OF AMLODIPINE AND NIFEDIPIN ON HYPERTENSION OUTPATIENTS AT PUBLIC HEALTH CENTRE

THE EFFECTIVENESS OF AMLODIPINE AND NIFEDIPIN ON HYPERTENSION OUTPATIENTS AT PUBLIC HEALTH CENTRE

Alfian Aji Wicaksono¹, Faridah Baroroh^{1*}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

Effectiveness is the extent to which a drug can achieve the desired effect in clinical practice, in this case, to achieve an effect in lowering systolic and diastolic blood pressure to a standard value. This study aims to determine the effectiveness of therapy, and whether or not there is a difference in blood pressure between amlodipine and nifedipine treatment. The type of research is analytic observational, with retrospective data collection conducted at Tanjungsari Health Center, Pacitan, East Java. The study subjects were control outpatients for the period January-September 2021 and met the inclusion criteria (ICD-110 outpatient hypertension patients, age 20 years, male or female with or without other diseases, receiving amlodipine and nifedipine antihypertensives, minimal treatment 3 months). The effectiveness of therapy is measured by the percentage of patients whose blood pressure values reach the therapeutic target after 3 months. The results of the study were 99 patients who met the inclusion criteria, 51 patients on amlodipine therapy with 73% effectiveness and 48 patients on nifedipine therapy with 29% effectiveness. The mean systolic blood pressure after 3 months of amlodipine therapy was 137 mmHg and 154 mmHg for nifedipine therapy. The mean diastolic blood pressure after 3 months of amlodipine therapy was 83 mmHg and 87 mmHg for nifedipine therapy. There was a significant difference in mean systolic blood pressure ($p=0.000$) and mean diastolic blood pressure ($p=0.001$) in hypertensive patients treated with amlodipine and nifedipine. In conclusion, the therapeutic effectiveness of amlodipine was 73% and nifedipine was 29%, and there was a significant difference ($p<0.01$) in blood pressure from amlodipine and nifedipine treatment.

Keywords: effectiveness, amlodipine, nifedipine, hypertension, public health center

ABSTRAK

Efektivitas adalah sejauh mana obat dapat mencapai efek yang diinginkan secara klinis, dalam hal ini yaitu untuk mencapai efek dalam menurunkan tekanan darah sistolik maupun diastolik hingga mencapai nilai standar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas terapi, dan ada atau tidak ada perbedaan rata-rata tekanan darah dari terapi amlodipine dan nifedipine. Jenis penelitian yaitu observasional analitik, dengan pengambilan data secara retrospektif yang dilakukan di Puskesmas Tanjungsari, Pacitan, Jawa Timur. Subyek penelitian adalah pasien rawat jalan yang kontrol periode Januari-September 2021 dan memenuhi kriteria inklusi (usia ≥ 18 tahun, mendapat antihipertensi amlodipine dan nifedipine, tidak ada pergantian obat dan rutin melakukan kontrol selama 3 bulan). Efektivitas terapi diukur berdasarkan presentase pasien yang nilai tekanan darahnya mencapai target terapi setelah 3 bulan. Hasil penelitian dari 99 pasien yang memenuhi kriteria inklusi, pasien terapi amlodipine 51 orang dengan efektivitas 73% dan 48 orang pasien terapi nifedipine dengan efektivitas 29%. Rata-rata tekanan darah sistolik setelah 3 bulan terapi amlodipine 137 mmHg dan 154 mmHg untuk terapi nifedipine. Rata-rata tekanan darah diastolik setelah 3 bulan terapi amlodipine 83 mmHg dan 87 mmHg untuk terapi nifedipine. Ada perbedaan yang signifikan rata-rata tekanan darah sistolik

($p=0,000$) dan rata-rata tekanan darah diastolik ($p=0,001$) pada pasien hipertensi dengan terapi amlodipine dan nifedipine. Kesimpulan, efektivitas terapi amlodipine 73% dan nifedipine 29%, serta ada perbedaan yang signifikan ($p<0,01$) rata-rata tekanan darah dari terapi amlodipine dan nifedipine.

Kata kunci : efektivitas, amlodipine, nifedipine, hipertensi, puskesmas

PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan keadaan tekanan darah yang meningkat dimana tekanan darah sistolik lebih besar atau sama dengan 140 mmHg dan atau tekanan darah diastolik lebih besar atau sama dengan 90 mmHg. Hipertensi merupakan hasil pengukuran darah terakhir minimal sekali dalam setahun. Pengukuran dilakukan terhadap penduduk yang memiliki usia lebih dari atau sama dengan 18 tahun. Prevalensi hipertensi di Indonesia berdasarkan hasil pengukuran pada penduduk usia lebih dari 18 tahun sebesar 34,1%, estimasi jumlah kasus hipertensi di Indonesia yaitu 63.309.620 penduduk, sedangkan angka kematian di Indonesia akibat hipertensi yaitu 427.218 kematian (Kemenkes, 2018). Jumlah estimasi penderita hipertensi yang berusia lebih dari 15 tahun di Provinsi Jawa Timur yaitu 11.952.694 penduduk, dari jumlah tersebut, yang mendapatkan pelayanan kesehatan penderita hipertensi sebanyak 40,1% atau 4.792.862 penduduk (Dinkes, 2019c). Estimasi jumlah penduduk Kabupaten Pacitan yang menderita hipertensi adalah 192.450 dan jumlah penduduk yang mendapatkan pelayanan adalah 37.690 orang (19,6%) (Dinkes, 2019b).

Berdasarkan Laporan penggunaan obat antihipertensi yang diresepkan oleh dokter untuk penderita hipertensi yang digunakan di Puskesmas Tanjungsari adalah Amlodipin dan Nifedipin dan paling banyak diberikan dengan dosis tunggal (Dinkes, 2019a). Amlodipine adalah agen yang paling kuat dan bekerja lebih lama

dibandingkan dengan CCB yang lebih baru, efektivitasnya dalam menurunkan tekanan darah masih menjadikannya agen pilihan di antara semua CCB (Tiwaskar, M., Langote, A., Kashyap, R., & Toppo, 2018). Amlodipin merupakan pilihan yang berguna untuk pengobatan hipertensi, termasuk sebagai terapi awal untuk pasien yang mungkin memerlukan beberapa obat untuk mencapai target tekanan darah (Shirley and McCormack, 2015). Respon tekanan darah terhadap nifedipine sebanding dengan aktivitas vasokonstriktor yang diberikan sistem saraf simpatik dan sistem renin-angiotensin yang secara actual diperlukan untuk pemeliharaan tekanan darah (Zicha, J., Dobešová, Z., Behuliak, M., Pintérová, M., Kuneš, J., & Vaněčková, 2014).

Efektivitas terapi merupakan bagian dari pemantauan terapi obat (Kemenkes RI, 2019). Efektivitas merupakan seberapa jauh obat dapat mencapai efek yang diinginkan dalam praktek klinis, dalam hal ini yaitu untuk mencapai efek dalam menurunkan tekanan sistolik maupun diastolik hingga mencapai target standar. Target tekanan berdasarkan JNC VIII, tekanan darah tercapai jika pasien dengan ≥ 60 tahun tanpa penyakit penyerta mempunyai tekanan darah $<150/90$ mmHg sedangkan tekanan darah tercapai pada pasien dengan umur <60 tahun tanpa penyakit penyerta, pasien dewasa dengan diabetes atau penyakit gagal ginjal kronik yaitu $<140/80$ mmHg (James *et al.*, 2014). Keberhasilan terapi pasien hipertensi berhubungan secara signifikan dengan kepatuhan minum obat

(Sumiasih, Trilestari and Utami, 2020). Frekuensi minum obat yang terlalu sering dapat mengakibatkan pasien bingung bahkan bosan untuk minum obat, hal tersebut dapat menurunkan kepatuhan pasien dalam hal minum obat. (Pramana, Dianingati and Saputri, 2019).

Amlodipin dan Nifedipin merupakan obat antihipertensi golongan CCB yang paling banyak digunakan di puskesmas Tanjungsari Pacitan. Frekuensi terapi Amlodipin 1x1 5 mg dan Nifedipin 2x1 10mg dengan adanya perbedaan frekuensi, kemungkinan ada perbedaan efektivitas. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukannya penelitian mengenai efektivitas terapi Amlodipin dan Nifedipin pada pasien hipertensi rawat jalan di Puskesmas Tanjungsari, Kabupaten Pacitan.

METODE PENELITIAN

Penelitian efektivitas terapi antihipertensi amlodipine dan nifedipine pada pasien hipertensi rawat jalan di Puskesmas Tanjungsari, Pacitan merupakan jenis penelitian observasional analitik. Pengambilan data secara retrospektif pada pasien rawat jalan yang kontrol di Puskesmas Tanjungsari, Pacitan periode Januari-September 2021. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan *purposive sampling*.

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah data rekam medik pasien hipertensi rawat jalan di Puskesmas Tanjungsari, Pacitan. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah lembar pengumpulan data.

Prosedur Penelitian

Penelitian dilaksanakan setelah adanya ijin dari komite etik penelitian ethical approval Nomor 1879/KEP-UNISA/IX/2021. Pasien yang

memenuhi kriteria inklusi yaitu sebanyak 99 pasien.

Analisis Data

Analisis data deskriptif untuk mengetahui karakteristik demografi pasien, efektivitas obat, dan rata-rata penurunan tekanan darah. Analisis data secara analitik yaitu dengan uji beda untuk mengetahui apakah ada atau tidak ada perbedaan rata-rata tekanan darah setelah diterapi pada kelompok obat amlodipine dengan nifedipine. Uji beda yang digunakan untuk data terdistribusi normal adalah Independent t-test, dan data tidak terdistribusi normal menggunakan Mann-Whitney. Uji normalitas menggunakan Kolmogrov-Smirnof untuk sampel lebih dari 50, dan Shapiro-Wilk untuk sampel kurang dari 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini mendapatkan data 99 pasien hipertensi yang memenuhi kriteria inklusi. Karakteristik demografi pasien hipertensi yang menjadi sampel pada penelitian ini secara rinci dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Karakteristik Demografi Pasien Rawat Jalan di Puskesmas Tanjungsari

Karakteristik demografi pasien	Variasi Kelompok	n (%)
Jenis Obat	Amlodipine	51(52)
	Nifedipine	48(48)
Jenis kelamin	laki-laki	32(32)
	Perempuan	67(68)
Usia	< 60 tahun	58(59)
	≥ 60 tahun	41(41)
Diagnosa	Hipertensi	75(76)
	Hipertensi + DM	24(24)

Hasil penelitian pada tabel I penggunaan amlodipine 52% lebih banyak dibandingkan nifedipine, hasil penelitian di Puskesmas Surabaya juga menunjukkan bahwa mayoritas pasien hipertensi mendapatkan obat antihipertensi

golongan CCB (Calcium Channel Blocker) sebesar 82,37% dengan obat amlodipine 5mg 49,19% (Ernawatia, Fandinata and Permatasari, 2022). Pasien perempuan pada subjek penelitian ini lebih banyak (68%) dibandingkan pasien laki-laki. Sama halnya dengan penelitian tentang hubungan jenis kelamin dengan kejadian hipertensi yang menunjukkan ada hubungan signifikan ($p=0,035$). Kejadian hipertensi pada perempuan (45%) lebih banyak dari pada kejadian hipertensi pada laki-laki (25%) (Falah, 2019). Subjek penelitian ini pasien dengan usia kurang dari 60 tahun lebih banyak (59%), hal ini beda dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa 65% kejadian hipertensi pada usia lebih dari 65 tahun (Arifin, Weta and Ratnawati, 2016). Berdasarkan diagnosa 76% subjek penelitian mengalami hipertensi tanpa komplikasi, hal ini lebih banyak di bandingkan dengan pasien hipertensi komplikasi diabetes. Begitu juga penelitian di Puskesmas Purwokerto Utara juga menunjukkan bahwa 77,66% pasien hipertensi tidak mengalami komplikasi diabetes dan 22,34% pasien mengalami komplikasi diabetes (Yuniati, 2022).

Efektivitas terapi pasien hipertensi rawat jalan di puskesmas pada penelitian ini, diukur berdasarkan tekanan darah pada awal pemeriksaan sebelum menggunakan obat dan tekanan darah pada bulan ketiga setelah penggunaan obat. Berdasarkan JNC VIII, tekanan darah tercapai jika pasien dengan ≥ 60 tahun tanpa penyakit penyerta mempunyai tekanan darah $<150/90$ mmHg sedangkan tekanan darah tercapai pada pasien dengan umur <60 tahun tanpa penyakit penyerta, pasien dewasa dengan diabetes atau penyakit gagal ginjal kronik yaitu $<140/80$ mmHg (James *et al.*, 2014). Efektivitas terapi hipertensi pasien rawat jalan di Puskesmas Tanjungari dirangkum pada tabel II.

Tabel II. Efektivitas Terapi Hipertensi Pada Pasien Rawat Jalan di Puskesmas Tanjungari

Obat	Presentase	
	Efektif	Tidak efektif
Amlodipine	37(73%)	14(27%)
Nifedipine	14(29%)	34(71%)

Pada tabel II menunjukkan bahwa nilai efektifitas terapi antihipertensi paling tinggi terdapat pada kelompok terapi obat tunggal amlodipine sebesar 73%. Nilai efektifitas yang dimaksud tekanan darah pasien menurun sesuai standar terapi, dan atau tekanan darah terkendali. Pasien hipertensi rawat jalan yang mendapatkan terapi Amlodipin mempunyai nilai efektifitas lebih tinggi dibandingkan dengan pasien hipertensi yang mendapat terapi Nifedipin. Hal ini terjadi dikarenakan ada pengaruh faktor pola hidup dan faktor kepatuhan pada masing-masing pasien yang tidak terkendali oleh peneliti. Dimana hasil penelitian di Puskesmas Prambanan Sleman menunjukkan bahwa hasil analisis statistik menggunakan uji Chi-Square nilai $P=0,037$. Hal ini menunjukkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara kepatuhan minum obat terhadap keberhasilan terapi pada pasien hipertensi (Sumiasih, Trilestari and Utami, 2020). Begitu juga penelitian di Samarinda, meskipun tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kepatuhan dengan outcome therapy (nilai $p 0,325$), namun responden yang memiliki kepatuhan tinggi lebih banyak mencapai target outcome therapy-nya (55,6%) dibandingkan yang tidak mencapai target (Azmi *et al.*, 2021). Dengan memodifikasi pola hidup pasien ataupun meningkatkan kepatuhan minum obat juga dapat membantu pasien mencapai tujuan terapi (Kemenkes RI, 2019).

Amlodipin dan Nifedipin merupakan obat antihipertensi golongan CCB yang paling banyak

digunakan di puskesmas Tanjungsari Pacitan. Frekuensi terapi Amlodipin 1x1 5 mg dan Nifedipin 2x1 10mg dengan adanya perbedaan frekuensi, kemungkinan ada perbedaan efektivitas. Frekuensi minum obat yang terlalu sering dapat mengakibatkan pasien bingung bahkan bosan untuk minum obat, hal tersebut dapat menurunkan kepatuhan pasien dalam hal minum obat. Frekuensi minum obat yang tidak terlalu sering misalnya obat hanya diminum satu kali dalam sehari dapat memudahkan pasien dalam hal mengingat dan juga dalam hal menetapkan jadwal atau jam minum obat (Pramana, Dianingati and Saputri, 2019).

Pada penelitian ini juga dilakukan uji beda rata-rata tekanan darah terapi Amlodipin dan nifedipine pada tekanan darah sistolik menggunakan uji Man-Whitney karena data rata-rata tekanan darah sistolik Amlodipin tidak terdistribusi normal. Menggunakan uji Man-Whitney juga dikarenakan perbedaan jumlah data dari kelompok obat tersebut. Sedangkan untuk data tekanan darah diastolik juga menggunakan uji Man-Whitney karena data tekanan darah diastolik Amlodipin dan Nifedipin tidak terdistribusi secara normal. Hasil uji beda rata-rata tekanan darah sistolik setelah terapi Amlodipin dan Nifedipin dapat dilihat pada tabel III.

Tabel III. Tekanan Darah Sistolik dan Diastolik Pada Pasien Hipertensi Rawat Jalan di Puskesmas

Tekanan darah	Obat hipertensi	N	Rata-rata tekanan darah <i>pre</i>	Rata-rata tekanan darah <i>post</i>	Δ Tekanan darah	Uji Beda (Nilai <i>p</i>)
Sistolik	Amlodipine	51	156	137	19	0,000
	Nifedipine	48	175	154	21	
Diastolik	Amlodipine	51	90	83	7	0,001
	Nifedipine	48	95	87	8	

Hasil penelitian pada tabel III dari uji beda rata-rata tekanan darah sistolik antara terapi Amlodipin dan Nifedipin nilai signifikansinya yaitu $p = 0,000 < 0,01$. Sehingga disimpulkan bahwa secara statistik, ada perbedaan rata-rata tekanan darah sistolik yang signifikan antara penggunaan jenis terapi Amlodipin dan terapi Nifedipin. Begitu juga uji beda rata-rata tekanan darah diastolik antara terapi Amlodipin dan Nifedipin nilai signifikansinya yaitu $p = 0,001 < 0,01$. Sehingga disimpulkan bahwa secara statistik, ada perbedaan tekanan darah diastolik yang signifikan antara penggunaan jenis terapi Amlodipin dan terapi Nifedipin. Hasil penelitian sebelumnya pada pasien rawat inap juga menunjukkan terdapat

perbedaan efektivitas tekanan darah pasien hipertensi yang mendapat terapi amlodipin tunggal dan terapi amlodipin kombinasi dengan lisinopril, tekanan darah sistolik nilai signifikansi 0,042 ($p < 0,05$) dan tekanan darah diastolik nilai signifikansi 0,038 ($p < 0,05$) (Udayani, N. N. W., Riastini, N. W., & Putra, 2018).

Keterbatasan penelitian

Keterbatasan penelitain ini diantaranya tidak mengontrol variabel pengganggu seperti kondisi pasien selama terapi, baik kepatuhan minum obat, makanan atau minuman, dan pola hidup pasien, dimana keadaan tersebut dapat mempengaruhi efektivitas terapi.

KESIMPULAN

Efektivitas terapi amlodipine 73% dan nifedipine 29% pada pasien hipertensi rawat jalan di Puskesmas Tanjungsari, Kabupaten Pacitan. Ada perbedaan yang signifikan rata-rata tekanan darah sistolik ($p=0,000$) dan rata-rata tekanan darah diastolik ($p=0,001$) pada pasien hipertensi dengan terapi amlodipine dan nifedipine.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami ucapkan untuk seluruh staff Puskesmas Tanjungsari yang telah memberikan izin dan membantu jalannya penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, M. H. B. M., Weta, I. W. and Ratnawati, N. L. K. A. (2016) 'Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Hipertensi Pada Kelompok Lanjut Usia Di Wilayah Kerja UPT Puskesmas Petang I Kabupaten Bandung Tahun 2016', *MEDIKA*, 5(7), pp. 1–23.
- Azmi, R. N. *et al.* (2021) 'Hubungan Kepatuhan Minum Obat Dengan Outcome Therapy Antihipertensi Pada Geriatrik Di Panti Sosial Tresna Werdha Nirwana Puri Samarinda', *Farmagazine*, 8(2), pp. 8–12.
- Dinkes (2019a) 'LPLPO Dan Laporan Tahunan Obat DAK Dan JKN Puskesmas Tanjungsari Pacitan'.
- Dinkes (2019b) 'Profil Kesehatan Kabupaten Pacitan Tahun 2019'.
- Dinkes (2019c) 'Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur', pp. 25–26.
- Ernawatia, I., Fandinata, S. S. and Permatasari, S. N. (2022) 'Profil Penggunaan Obat Antihipertensi di Puskesmas Surabaya', *Lambung Farmasi*, 3(2), pp. 134–138.
- Falah, M. (2019) 'Hubungan Jenis Kelamin Dengan Angka Kejadian Hipertensi Pada Masyarakat Di Kelurahan Tamansari Kota Tasikmalaya', *Jurnal Keperawatan & Kebidanan STIKes Mitra Kencana Tasikmalaya*, 3(1), pp. 85–94.
- James, P. A. *et al.* (2014) '2014 Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults: Report From the Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8)', *JAMA*, 311(5), pp. 507–520. doi: 10.1001/jama.2013.284427.
- Kemenkes, R. I. (2018) *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan penelitian dan pengembangan kesehatan, Kemenkes RI, Jakarta, 94–100.
- Kemenkes RI (2019) 'Pedoman Pelayanan Kefarmasian pada Hipertensi'.
- Pramana, G. A., Dianingati, R. S. and Saputri, N. E. (2019) 'Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kepatuhan Minum Obat Pasien Hipertensi Peserta Prolanis di Puskesmas Pringapus Kabupaten Semarang', *ndonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 2(1), pp. 52–58.
- Shirley, M. and McCormack, P. L. (2015) 'Perindopril/Amlodipine (Prestalia®): A Review in Hypertension', *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 15(5), pp. 363–370. doi: 10.1007/s40256-015-0144-1.
- Sumiasih, H., Trilestari and Utami, W. (2020) 'Hubungan Kepatuhan Minum Obat terhadap Keberhasilan Terapi pada Pasien Hipertensi di Puskesmas Prambanan Sleman Bulan Januari – Februari 2020', *Cerata Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), pp. 21–27.
- Tiwaskar, M., Langote, A., Kashyap, R., & Toppo, A. (2018) 'Amlodipine in the Era of New Generation Calcium Channel Blockers', *The Journal of the Association of Physicians of India*, 66(3), pp. 64–69.
- Udayani, N. N. W., Riastini, N. W., & Putra, I. M. A. S. (2018) 'Perbedaan Efektivitas Penggunaan Obat Amlodipin Tunggal Dengan Kombinasi Amlodipin Dan Lisinopril Pada Pasien Hipertensi Rawat Inap Di RS "X" Tabanan Tahun 2017', *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 4(2).
- Yuniati, N. I. (2022) 'Profil Pasien Hipertensi di Puskesmas Purwokerto Utara', *Jurnal Bina Cipta Husada*, 18(1), pp. 140–150.
- Zicha, J., Dobešová, Z., Behuliak, M., Pintérová, M., Kuneš, J., & Vaněčková, I. (2014) 'Nifedipine-sensitive blood pressure component in hypertensive models characterized by high activity of either sympathetic nervous system or renin-angiotensin system', *Physiological research*, 63(1), pp. 13–26.

ARTIKEL

ANALISIS MERKURI PADA BLEACHING CREAM YANG DIJUAL SECARA ONLINE DAN TIDAK MEMILIKI IZIN EDAR DARI BPOM

ANALYSIS OF MERCURY IN BLEACHING CREAM THAT SOLD ONLINE AND DOES NOT HAVE A LICENSE FROM BPOM

Dian Prasasti^{1*}, Silviniar Arifin¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

As time goes by, many women use whitening cream cosmetic products to get white skin instantly. This is used by producers who are not responsible for putting hazardous materials such as mercury into skin whitening cosmetic products to get instant results. One type of skin whitening cream product is bleaching cream. The use of mercury in cosmetics has been banned because it can cause vomiting, and lung damage and is a carcinogenic substance in humans. The aim of the study was to determine whether there was any mercury cream content and levels sold online and did not have marketing authorization from BPOM. The sample used for this study was bleaching cream which was sold online and did not have marketing authorization from BPOM with 5 samples. Qualitative analysis using KI 0.5 N color reagent, while quantitative analysis using the Mercury Analyzer instrument. The results of mercury content determination in 5 Bleaching cream samples sold online and not having BPOM distribution permit showed the presence of mercury with levels of 16.79 ± 0.64 ppb in Bleaching cream A; 109.3 ± 13.5 ppb for Bleaching cream B; 30.57 ± 4.05 ppb on Bleaching cream C; 22.13 ± 0.65 ppb for Bleaching cream D and 27.07 ± 2.04 ppb for Bleaching cream E.

Keywords: Mercury, Bleaching cream, Mercury Analyzer

ABSTRAK

Seiring perkembangan zaman banyak wanita yang menggunakan produk kosmetik krim pemutih untuk mendapatkan kulit yang putih secara instan. Hal ini dimanfaatkan oleh produsen yang tidak bertanggung jawab memasukkan bahan berbahaya seperti merkuri kedalam produk kosmetik pemutih kulit untuk mendapatkan hasil yang instan. Salah satu jenis produk krim pemutih kulit yaitu *bleaching cream*. Penggunaan merkuri dalam kosmetik sudah dilarang karena dapat mengakibatkan muntah-muntah dan kerusakan paru-paru, serta merupakan zat karsinogenik pada manusia. Tujuan penelitian untuk mengetahui ada tidaknya kandungan dan kadar merkuri pada *bleaching cream* yang dijual secara online dan tidak memiliki izin edar dari BPOM. Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah *bleaching cream* yang dijual secara *online* dan tidak memiliki izin edar dari BPOM dengan jumlah lima sampel. Analisis secara kualitatif menggunakan pereaksi warna KI 0,5 N, sedangkan analisis kuantitatif menggunakan instrumen *Mercury Analyzer*. Hasil penetapan kadar merkuri dalam lima sampel *bleaching cream* yang dijual secara online dan tidak memiliki izin edar BPOM menunjukkan adanya merkuri dengan kadar $16,79 \pm 0,64$ µg/Kg pada *Bleaching cream A*; $109,3 \pm 13,5$ µg/Kg pada *Bleaching cream B*; $30,57 \pm 4,05$ µg/Kg pada

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Bleaching cream C; $22,13 \pm 0,65 \mu\text{g/Kg}$ pada *Bleaching cream D*, dan $27,07 \pm 2,04 \mu\text{g/Kg}$ pada *Bleaching cream E*.

Kata kunci: Merkuri, *bleaching cream*, *Mercury Analyzer*

PENDAHULUAN

Kosmetik menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan tahun 2011 merupakan setiap bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar) atau gigi dan mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan, memperbaiki bau badan, melindungi dan memelihara tubuh pada kondisi baik (BPOM, 2011)

Seiring dengan perkembangan zaman dan adanya anggapan bahwa wanita yang berkulit putih bersih adalah cantik, maka banyak wanita yang menggunakan produk kosmetik untuk mendapatkan kulit yang putih secara instan. Hal ini dimanfaatkan oleh produsen kosmetik untuk memproduksi krim pemutih. Salah satu jenis produk krim pemutih kulit yaitu *bleaching cream*.

Bleaching cream merupakan masker kulit seluruh tubuh yang berfungsi untuk memutihkan kulit. Produk *bleaching cream* banyak dijual secara online dengan harga lebih murah dan sebagian besar tidak memiliki izin edar dari BPOM yang kemungkinan mengandung bahan berbahaya (Lestari, 2018).

Pada Mei 2013, BPOM mengeluarkan *public warning* yang berisi 17 jenis kosmetik yang mengandung bahan berbahaya dan dilarang dimana sebagian besar merupakan produk pemutih kulit yang mengandung merkuri (BPOM, 2013). Kadar merkuri dalam kosmetika menurut

peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan tahun 2014 tentang Persyaratan Cemar Mikroba dan Logam Berat dalam Kosmetik ialah tidak lebih dari 1 mg/kg atau 1 mg/L (1 *bpj*/ 1 *ppm*). Merkuri dilarang digunakan dalam produk pemutih kulit karena dapat menyebabkan iritasi, hiperpigmentasi berupa bintik-bintik hitam serta dapat menyebabkan keracunan sistemik, dan pada dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan permanen otak, ginjal, dan gangguan perkembangan janin (Trenggono, 2014).

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan merkuri dalam produk *bleaching cream* yang dijual secara online dan tidak memiliki izin edar dari BPOM, serta berapa banyak kadar merkuri dalam produk *bleaching cream* yang dijual secara online dan tidak memiliki izin edar dari BPOM.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel *bleaching cream*, Bahan Baku $\text{Hg}(\text{NO}_3)$, HNO_3 pekat, HCl pekat, aquadest, KI. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah Peralatan gelas, Spektrofotometri Serapan Atom tipe AMA254 *Mercury Analyzer*, timbangan analitik, kompor listrik. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analisa Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan (UAD) dan Laboratorium Penelitian Dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM).

Uji Keseragaman Bobot

Seluruh produk bleaching cream ditimbang satu persatu, kemudian dihitung rata-rata bobot dari setiap produk.

Analisis Kualitatif

Pembuatan Larutan Uji Secara Digesti Basah

Ditimbang sebanyak 2 g sampel. Tambahkan aquadest sebanyak 25 mL, setelah itu tambahkan dengan 10 mL larutan HCl pekat dan HNO₃ pekat dengan perbandingan volume 3 : 1, lalu uapkan sampai hampir kering. Pada sisa penguapan tambahkan aquadest sebanyak 10 mL. Lalu dipanaskan sebentar, didinginkan dan disaring.

Pengujian Sampel Dengan Reaksi Warna

Sejumlah 5 mL larutan uji ditambah 1-2 tetes larutan Kalium Iodida 0,5 N perlahan melalui dinding tabung reaksi. Jika sampel positif mengandung merkuri maka akan terbentuk endapan merah jingga.

Analisis Kuantitatif

Pembuatan Larutan Baku Merkuri

Larutan baku Hg(NO₃) 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquadest sehingga diperoleh konsentrasi larutan baku 1000 ppb. Dari larutan baku 1000 ppb diambil 0,1 mL kemudian dimasukkan pada labu takar 10 mL, dan ditambahkan aquadest sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppb.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dari larutan dengan konsentrasi 10 ppb diambil sebanyak 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 mL lalu dimasukkan kedalam labu takar 10 mL dan ditambahkan aquadest hingga tepat volume 10 mL. Kemudian larutan baku dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,1 mL KMnO₄; 0,1 mL *hydroxyl-aminehydrochloride*; 0,5 mL SnCl₂·2H₂O digojog. Kemudian dibaca absorbansi

larutan menggunakan alat instrumen *mercury analyzer*.

Dekstruksi sampel

Sampel ditimbang menggunakan erlenmeyer 100 mL, ditambahkan campuran HNO₃ : HClO₄ pekat dengan perbandingan 1 : 1 sebanyak 10 mL. Campuran dipanaskan menggunakan *hotplate* dengan suhu >160°C hingga jernih dan keluar asap putih. Larutan didinginkan dalam suhu kamar, setelah dingin larutan disaring, ditepatkan volumenya hingga 50,0 mL dengan labu takar.

Pembacaan kadar merkuri dalam sampel

Dari larutan hasil destruksi diambil 10,0 mL dengan labu takar, dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,1 mL KMnO₄ 0,1 % kemudian digojog. Ditambahkan *hydroxylaminehydrochloride* 0,1 mL dan digojog, setelah itu ditambahkan 0,5 mL SnCl₂·2H₂O. Larutan dibaca menggunakan alat instrumen *mercury analyzer*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel dalam penelitian ini adalah beberapa *bleaching cream* yang dijual secara *online*. Jumlah sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah sebanyak 5 sampel yang tidak memiliki izin edar dari BPOM. Prosedur kerja dimulai dari uji keseragaman bobot, prosedur kerja yang kedua ialah pemeriksaan kualitatif untuk mengetahui adanya Hg di dalam kosmetik *bleaching cream* tersebut yang kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan kuantitatif untuk mengetahui kadar Hg.

Uji keseragaman bobot dilakukan untuk mengetahui keseragaman berat bersih krim (*netto*) pada masing-masing produk yang akan diuji. Berat *netto* tersebut digunakan sebagai acuan untuk menentukan berapa banyak berat krim yang akan dianalisis. Pada penelitian ini

digunakan 5 sampel produk *bleaching cream* yang tidak memiliki nomor notifikasi (izin edar) dari BPOM yang ditemukan pada toko *online*.

Tabel 1. Hasil Uji Keseragaman Bobot

replikasi	Bobot produk (gram)				
	Sampel A	Sampel B	Sampel C	Sampel D	Sampel E
1	65,6436	10,447	61,4828	98,7231	124,537
2	65,7458	10,3632	61,8381	98,7234	124,657
3	65,9031	10,3634	61,4828	98,7232	124,174
4	65,9030	10,3632	61,6454	98,6791	124,657
5	65,7459	10,3926	61,6451	98,7231	124,657
Rata-rata	65,7880	10,3840	61,6180	98,7140	124,536
SD	0,1131	0,03363	0,14735	0,0148	0,20914
RSD (%)	0,1719	0,3238	0,2391	0,0149	0,1679

Hasil dari uji keseragaman bobot pada masing-masing sampel *bleaching cream* yang dianalisis menunjukkan hasil yang baik, hasil ini dibuktikan dengan perhitungan nilai *RSD* yang didapat. Nilai *RSD* dibawah 5% memberikan hasil keseksamaan yang baik (Rohman,2007).

Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui keberadaan merkuri dari berbagai *bleaching cream*. Pada penelitian identifikasi merkuri pada *bleaching cream* secara analisis kualitatif dilakukan dengan menggunakan reagen Kalium Iodida. Pada analisis kualitatif apabila sampel *bleaching cream* mengandung merkuri maka akan terbentuk endapan warna merah jingga jika ditambahkan reagen Kalium Iodida. Endapan merah tersebut merupakan endapan dari Hg₂I₂. Berikut reaksi merkuri dengan kalium iodida.



Dari penelitian yang dilakukan secara kualitatif didapatkan hasil yang ditampilkan pada tabel 1.

Berdasarkan tabel penelitian kualitatif tersebut dapat diketahui bahwa kelima sampel

tersebut positif mengandung merkuri sehingga perlu dilakukan uji kuantitatif untuk mengetahui kadarnya.

Peralatan yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) tipe *AMA254 Mercury Analyzer*. Prinsip kerja dari *Mercury Analyzer* adalah senyawa merkuri dalam sampel dioksidasi menjadi ion merkuri oleh oksidator kuat dalam suasana asam. Ion merkuri (Hg²⁺) kemudian direduksi menjadi atom merkuri oleh SnCl₂. Atom merkuri yang terukur kemudian diukur absorbansinya dengan *Mercury Analyzer*.

Metode analisis SSA tipe *AMA254 Mercury Analyzer* ini menggunakan metode penggabungan dari metode analisis hibrida dan metode analisis uap dingin, dimana penggabungan metode tersebut untuk memperoleh hasil analisis yang lebih akurat. Metode metode analisis uap dingin ini digunakan karena sifat merkuri yang memiliki titik didih yang relative rendah dan mudah menguap, menyebabkan merkuri memungkinkan untuk diukur tanpa melibatkan penggunaan energi panas atau pemanasan elektromal. Sedangkan untuk

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

metode analisis hibrida digunakan karena merkuri terurai menjadi atom-atom melalui reaksi reduksi ketika atomisasi dilakukan dapat membentuk dengan SnCl₂. senyawa hybrid dalam bentuk gas atau lebih

Tabel 2. Hasil Uji Kualitatif

Kode Sampel	Replikasi	Uji Warna dengan Kalium Iodida	Ket
A	A1	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	A2	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	A3	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	A4	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	A5	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
B	B1	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	B2	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	B3	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	B4	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	B5	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
C	C1	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	C2	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	C3	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	C4	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	C5	Larutan kuning keruh dengan endapan merah jingga	Positif (+)
D	D1	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	D2	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	D3	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	D4	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	D5	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
E	E1	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	E2	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	E3	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	E4	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
	E5	Larutan orange dengan endapan merah jingga	Positif (+)
Standar		Larutan kuning dengan endapan merah jingga	Positif (+)

Analisis kuantitatif merkuri dengan menjadi Hg²⁺ dan ditambahkan *Mercury Analyzer*, sampel didestruksi basah *hydroxylaminehydrochloride* yang berfungsi dengan menggunakan campuran pelarut HNO₃ dan sebagai penetral KMnO₄. Kemudian ditambahkan s HClO₄ kemudian ditambahkan KMnO₄ yang SnCl₂.2H₂O yang berfungsi yang berfungsi sebagai berfungsi sebagai reagen pengoksidasi ikatan Hg⁺ pereduksi Hg²⁺ menjadi Hg (uap merkuri). Hg (uap

merkuri) yang dihasilkan kemudian ditransportkan oleh aliran udara atau inert gas ke sebuah sel absorpsi yang terpasang dalam instrument *Mercury Analyzer*.

Hasil analisis kuantitatif merkuri pada produk *bleaching cream* dengan menggunakan alat *Mercury Analyzer* dengan pengukuran panjang gelombang 253,7 nm (Tabel 2).

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Merkuri

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi (µg/L)	Berat Sampel (g)	Vol (mL)	Kadar Hg (µg/Kg)	Kadar Rata-rata ± LE	CV (%)
A	0,0096	0,43	1,1412		17,09		
	0,0092	0,40	1,0807	50	16,66	16,79 ± 0,64	1,53
	0,0090	0,39	1,0523		16,63		
B	0,0618	3,12	1,3326		115,6		
	0,0569	2,87	1,3326	50	106,2	109,3 ± 13,5	4,96
	0,0568	2,87	1,3326		106,2		
C	0,0145	0,68	1,0210		31,34		
	0,0157	0,74	1,0210	50	31,68	30,57 ± 4,05	5,34
	0,0149	0,70	1,0210		28,70		
D	0,0114	0,52	1,0698		22,43		
	0,0112	0,51	1,0698	50	21,97	22,13 ± 0,65	1,19
	0,0110	0,50	1,0466		21,98		
E	0,0128	0,59	1,0530		26,12		
	0,0134	0,62	1,0530	50	27,54	27,07 ± 2,04	3,03
	0,0133	0,62	1,0530		27,54		

Dari hasil penelitian ini telah terbukti bahwa semua sampel *bleaching cream* yang dijual secara *online* dan tidak memiliki izin edar dari BPOM positif mengandung merkuri. Hasil penetapan kadar merkuri dalam 5 sampel *Bleaching cream* yang dijual secara *online* dan tidak memiliki izin edar BPOM menunjukkan adanya merkuri dengan kadar $16,79 \pm 0,64$ µg/Kg pada *Bleaching cream* A; $109,3 \pm 13,5$ µg/Kg pada *Bleaching cream* B; $30,57 \pm 4,05$ µg/Kg pada *Bleaching cream* C; $22,13 \pm 0,65$ µg/Kg pada *Bleaching cream* D dan $27,07 \pm 2,04$ µg/Kg pada *Bleaching cream* E. Menurut BPOM No. KH.00.0143.2503 tentang *Public Warning/Peringatan* tentang Kosmetik Mengandung Bahan

Berbahaya/ Bahan dilarang. Dalam kadar sedikitpun merkuri dapat bersifat racun, sehingga penggunaan merkuri / air raksa dilarang karena termasuk dalam logam berat (BPOM, 2009).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Hasil analisis kualitatif untuk kelima sampel *Bleaching cream* tersebut positif mengandung merkuri karena terdapat endapan merah jingga.
2. Hasil penetapan kadar merkuri dalam 5 sampel *Bleaching cream* yang dijual secara *online* dan tidak memiliki izin edar BPOM

menunjukkan adanya merkuri dengan kadar $16,79 \pm 0,64 \mu\text{g/Kg}$ pada *Bleaching cream A*; $109,3 \pm 13,5 \mu\text{g/Kg}$ pada *Bleaching cream B*; $30,57 \pm 4,05 \mu\text{g/Kg}$ pada *Bleaching cream C*; $22,13 \pm 0,65 \mu\text{g/Kg}$ pada *Bleaching cream D* dan $27,07 \pm 2,04 \mu\text{g/Kg}$ pada *Bleaching cream E*.

SARAN

1. Disarankan kepada konsumen untuk lebih berhati-hati dalam memilih produk kosmetika khususnya krim pemutih. Hindari memilih produk yang tidak mencantumkan nomor registrasi dari BPOM RI.
2. Hendaknya melakukan pengecekan kembali produk yang mencantumkan nomor registrasi melalui website resmi BPOM (<http://cekbpom.pom.go.id/>) untuk mengetahui kebenaran tentang kesesuaian nomor registrasi dengan izin edar produk tersebut.
3. Perlu dilakukan pemeriksaan secara berkala oleh instansi terkait seperti BPOM untuk semua produk yang beredar dipasaran agar tetap terjaga keamanannya.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan produk yang lebih banyak dengan area yang lebih luas, sehingga hasilnya lebih representative

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2006, Public Warning/Peringatan Nomor : KH.00.01.3352 tentang Kosmetik Yang Mengandung Bahan Dan Zat Warna Yang Dilarang, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2010, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No 1175 tentang Izin Produksi Kosmetik, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2010, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No 1176 tentang Notifikasi Kosmetika, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2010, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.12.10.11983 tentang Kriteria dan Tata Cara Pengajuan Notifikasi Kosmetika, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2010, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.12.10.12459 tentang Persyaratan Teknis Kosmetika, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2011, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 tentang Metode Analisis Kosmetika, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Rohman, A., 2014, *Validasi dan Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia*, Edisi 1, Penerbit Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Syafnir, I., dan Putri, A.P., 2011, Pengujian Kandungan Merkuri Dalam Sediaan Kosmetik Dengan Spektrofotometri Serapan Atom, *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan PKM Sains, Teknologi dan Kesehatan*.
- Trangono R. I., dan Latifah F., 2014, *Buku Pegangan dasar Kosmetologi*. Jakarta: Gramedia.
- Lestari, W., Prasasti, D., 2018, Analisis hidrokuinon pada bleaching cream yang dijual secara online dan tidak memiliki izin edar dari BPOM, *Media Farmasi*, 15 (1): 43-51
- Vogel. 1985. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Edisi kelima. Bagian I. PT Kalman Pustaka : Jakarta

ARTIKEL

UJI STABILITAS FISIK, KIMIA DAN MIKROBIOLOGI TABLET KUNYAH EKSTRAK ETANOL SPIRULINA (*Spirulina platensis*)

PHYSICAL, CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL STABILITY TESTING OF *Spirulina platensis* ETANOL EXTRACT CHEWABLE TABLET

Siti Fatmawati Fatimah^{1*}, Nur Fitri¹, Tedjo Yuwono¹, Citra Ariani Edityaningrum¹, Laela Hayu Nurani²

1Departemen Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

2Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

The high content of β -carotene in *Spirulina platensis* can overcome vitamin A deficiency, so it is innovated as a chewable tablet. The study aimed to determine the effect of tablet storage duration on stability test parameters, the number of microbial contaminants, shelf life determination, and $t_{1/2}$ β -carotene content. *Spirulina platensis* was macerated with 96% ethanol. Chewable tablets were prepared by direct compress and tested for organoleptic, hardness, moisture content, total plate count, mold and yeast count, and *E.coli* qualitative test on days 0, 20, and 40. Tablets were stored at various temperatures, RH 75% for 28 days. The β -carotene content in the tablets was analyzed by KLT densitometry λ 453 nm, stationary phase silica gel 60 F₂₅₄, and mobile phase acetone: ethyl acetate (1:1). Colony count method using Standard Plate Count (SPC). The hardness and total plate count test results on days 0, 20, and 40 tablets showed significant differences ($p < 0.05$). The water content and mold and yeast count, test results showed insignificant differences ($p > 0.05$) and were negative for *E.coli*. The chemical stability test results obtained the content of β -carotene in tablets 2.414 mg/tablet. The degradation of β -carotene follows zero-order kinetics with the rate constant (K) values, shelf life, and $t_{1/2}$ at 25°C of 0.019 mg/day, 12 days, and 64 days, respectively, while at 5°C it has a shelf life of 4 months. The study concludes that the length of storage has a significant effect on hardness and ALT but has no significant effect on moisture content and AKK.

Keywords: β -carotene, chewable tablet, *Spirulina platensis*, stability

ABSTRAK

Tingginya kandungan β -karoten di *Spirulina platensis* dapat mengatasi defisiensi vitamin A sehingga diinovasikan sebagai tablet kunyah. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh lama penyimpanan tablet terhadap parameter uji stabilitas, jumlah cemaran mikroba, penentuan shelf life dan $t_{1/2}$ kandungan β -karoten. *Spirulina platensis* dimaserasi dengan etanol 96%. Tablet kunyah dibuat dengan kempa langsung dan diuji organoleptis, kekerasan, kadar air, Angka Lempeng Total (ALT), Angka Kapang Khamir (AKK) dan uji kualitatif *E.coli* hari ke 0, 20, dan 40. Tablet disimpan diberbagai suhu, RH 75% selama 28 hari. Kandungan β -karoten dalam tablet dianalisis dengan KLT densitometri λ 453 nm, fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak aseton : etil asetat (1:1). Metode perhitungan koloni menggunakan Standard Plate Count (SPC). Hasil uji kekerasan dan ALT tablet hari ke 0, 20, 40 menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Hasil uji kadar air dan AKK menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($p > 0,05$) serta negatif terhadap *E.coli*. Hasil uji stabilitas kimia diperoleh kandungan β -karoten dalam tablet 2,414 mg/tablet. Degradasi β -karoten mengikuti kinetika orde ke-0 dengan nilai konstanta kecepatan (K), *shelf life*, dan $t_{1/2}$ pada suhu 25°C sebesar berturut-turut 0,019 mg/hari, 12 hari, dan 64 hari, sedangkan pada suhu 5°C mempunyai shelf life 4 bulan. Kesimpulan penelitian adalah lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap kekerasan dan ALT, namun berpengaruh tidak signifikan terhadap kadar air dan AKK.

Kata kunci: β -Karoten, Tablet Kunyah, *Spirulina platensis*, Stabilitas

PENDAHULUAN

Spirulina platensis dapat mengatasi defisiensi vitamin A karena banyak mengandung β -karoten yang merupakan provitamin A. Defisiensi vitamin A dapat menyebabkan daya tahan tubuh berkurang, gangguan penglihatan, gangguan pertumbuhan serta dapat menyebabkan kematian. Di dalam *Spirulina* terkandung β -karoten sekitar 80% (Sugiharto and Ayustaningwarno, 2014) sehingga dapat digunakan untuk menambah asupan vitamin A terutama anak-anak yang sangat memerlukan pemeliharaan kesehatan mata sejak dini dan juga menambah asupan untuk ibu hamil.

Dalam upaya peningkatan konsumsi vitamin A, produk β -karoten dalam ekstrak *Spirulina* dibuat dengan rasa enak dan tidak meninggalkan rasa pahit, sehingga produk β -karoten tersebut tidak hanya disukai anak-anak namun akan disukai oleh berbagai umur. Bentuk sediaan yang dipilih untuk produk β -karoten tersebut adalah tablet kunyah yang memiliki kelebihan membantu orang tua dan anak-anak yang mengalami kesulitan dalam menelan obat. Tablet kunyah merupakan bentuk sediaan praktis yang diformulasikan untuk pecah secara perlahan-lahan.

Untuk menjamin kualitas produk, tablet kunyah *Spirulina* perlu dilakukannya uji stabilitas. Uji stabilitas bertujuan untuk melihat mutu dan keamanan tablet kunyah *Spirulina* selama waktu penyimpanannya serta untuk menentukan waktu kadaluwarsa yang berhubungan dengan penurunan sampai dengan hilangnya khasiat obat. Hasil dari uji stabilitas merupakan syarat untuk mendapatkan izin edar sehingga produk yang telah dibuat dapat dipasarkan dan bermanfaat untuk masyarakat yang mengalami masalah defisiensi vitamin A.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain maserator (*IKA*), *rotary evaporator* (*Heildolp*), corong buchner, *vacum pump* (*Tw-0,5A*), *waterbath* (*Memmert*), mesin tablet *single punch* (*Korsch*), alat uji kekerasan tablet (*hardness tester*), *Halogen Moisture Analyzer* (*HB43 Mettler Teldo*), timbangan digital AND GR 202, *climatic chamber*, *glassware* (*iwaki pyrex*), *porcelain ware*, *aluminium foil*, wadah botol berkaca gelap (Amper 50 mL), labu takar (*Pyrex Iwaki*), Densitometer Scanner 4 (*Cammag*), cawan petri, pipet ukur, tabung rekasi (*iwaki pyrex*), beaker glass (*iwaki pyrex*), rak tabung reaksi, mikropipet (*Socorex*), *yellow tip* (*gilson*), *blue tip* (*gilson*), inkubator (*BINDER*) dengan suhu 37°C, autoklaf (*SHENAN*), *BSC* (*Biological Safety Cabinet*) Class II (*Model Guardian MSC T1200*).

Bahan yang digunakan etanol 96%, *Spirulina platensis* (diperoleh dari Musthofa Herbal), ludipress, aerosil 200, PEG 6000, dan sakarin diperoleh dari Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, etil asetat (p.a), aseton, standar β -karoten yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Analisis Farmasi UAD, NaCl 0,9% b/v, kloramfenikol 1%, media PCA (*Plate Count Agar*), media PDA (*Potato Dextrosa Agar*) diperoleh di Laboratorium Terpadu Biomedik dan media TBX (*Oxoid*).

Identifikasi Serbuk *Spirulina platensis*

Identifikasi serbuk *Spirulina* (*Spirulina platensis*) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil identifikasi makroskopis dan mikroskopis sampel dibandingkan dengan penelitian Lupatini dkk (2017)

Pembuatan ekstrak etanol 96% *Spirulina platensis*

Metode yang digunakan yaitu maserasi. Sampel sebanyak 1405 gram direndam dalam 5 liter etanol 96%. Campuran diaduk dengan maserator selama 2 jam kemudian didiamkan 24 jam pada suhu kamar dalam wadah tertutup rapat atau ditutupi dengan alumunium. Proses maserasi dilakukan 3 kali. Hasil perendaman disaring menggunakan corong buchner yang dilapisi kertas saring Whatman nomor 41. Serbuk diremaserasi tiga kali dan ketiga filtrat digabungkan, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak yang diperoleh didiamkan dalam cawan porselen yang telah ditimbang dan diletakkan di atas *waterbath* selama 12 jam atau hingga diperoleh ekstrak kental. Cawan porselin ditutup menggunakan alumunium foil yang dilubangi. Ekstrak etanol yang diperoleh dikeringkan dengan aerosil 200 perbandingan ekstrak: aerosil 1:1,6 (Fatimah *et al.*, 2021), ditimbang dan disimpan (Rumengan and Mantiri, 2015; Erlila, 2017). Rumus rendemen dapat dilihat pada persamaan 1.

$$\% \text{rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia awal}} \times 100\% \dots\dots(1)$$

Pembuatan Tablet Kunyah Spirulina

Pembuatan tablet kunyah Spirulina pada penelitian ini dilakukan berdasarkan hasil optimasi bahan pelicin aerosil 200 dan PEG 6000 tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina dengan mengacu pada *Generic Drug Formulations* dengan formula yang telah dikembangkan oleh BSF *Technology* (Buhler, 2001) pada tabel I. Proses pencampuran seluruh formula selama 25 menit kemudian campuran diayak dengan ayakan berukuran 0.8 mm. Massa tablet dicetak dengan

tekanan medium berdasarkan hasil uji kompaktibilitas.

Tabel I. Formula Tabel Kunyah Spirulina (mg/tablet)

Bahan	Bobot
Ekstrak kering spirulina*	250 mg
Ludipress	245 mg
<i>Polyethylene glycol</i> 6000	5 mg
Sakarin	1 mg
Aerosil 200	25 mg

Keterangan: *) ekstrak kental *Spirulina platensis* yang telah dikeringkan dengan aerosil 200

Uji stabilitas tablet kunyah ekstrak etanol spirulina

Tablet kunyah ekstrak Spirulina diuji stabilitasnya dengan cara disimpan selama 40 hari (Resti and Ilza, 2016) pada suhu penyimpanan 25°C-30°C atau disimpan dalam desikator dengan mengontrol kelembaban pada RH 75% dengan larutan NaCl jenuh. Parameter uji stabilitas yang diamati meliputi organoleptis, uji kekerasan tablet, uji kadar air dan kandungan β -Karoten dalam Tablet Kunyah Spirulina. Pengujian dilakukan pada hari ke 0, 20, dan 40.

Uji organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan dengan mengamati warna, bau, bentuk dan rasa. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali

Uji kekerasan

Sebanyak 10 tablet diambil secara acak, ditentukan kekerasannya dengan alat pengukur kekerasan tablet. Syarat standar kekerasan tablet kunyah (4-12 kPa) (FDA, 2018).

Uji kadar air

Dua puluh tablet digerus lalu ditimbang sejumlah bobot 1 tablet yaitu 526 mg dan dimasukkan kedalam *Halogen Moisture Analyzer*.

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Setelah itu dikeringkan dengan *Moisture Analyzer* pada suhu penguapan air ($>100^{\circ}\text{C}$) selama 15 menit. Bobot sampel yang telah dikeringkan dicatat. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

Uji Stabilitas Kimia Kandungan β -Karoten dalam Tablet Kunyah Spirulina

Tablet kunyah ekstrak Spirulina disimpan 28 hari pada suhu penyimpanannya 40°C , 50°C (Colla, Furlong and Costa, 2007), dan 60°C di dalam *climatic chamber* yang diatur pada RH 75%. Pengukuran kadar β -karoten dilakukan sebanyak 3 kali replikasi dan diukur pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan hari ke 28 (Indayanti, 2014; Rahayu dan Ari., 2018). Langkah-langkah dalam pengerjaan KLT-densitometri yaitu :

- 1) Fase Gerak yang digunakan adalah aseton : etil asetat (1:1)
- 2) Penentuan panjang gelombang maksimum dengan menotolkan standar β -karoten pada *plate* yang sudah diaktifkan, lalu dielusi sampai 9 cm. *Plate* dikeringkan selama 1 jam. Spot standar dibaca pada $\lambda 400-500$ nm (United State Pharmacopeia, 2005)
- 3) Pembuatan Kurva Baku
 - a) Larutan Induk β -Karoten dibuat dengan 20 mg standar β -karoten, dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan ditambahkan etil asetat hingga tanda kemudian gojok hingga homogen.
 - b) Pembuatan Seri Kadar Kurva Baku
Larutan dibuat 5 seri kadar larutan kurva baku 0,100 mg/mL; 0,201 mg/mL; 0,301 mg/mL; 0,402 mg/mL; 0,502 mg/mL dengan pelarut etil asetat p.a dalam labu takar 5 mL. Seri kadar ditotolkan pada fase diam aktif (*plate* silika gel F₂₅₄) sebanyak 5 μl lalu

dikeringkan dan dielusi (Mahmudah, 2018). Hasil elusi lalu dibaca menggunakan Densitometer *Scanner*.

4) Penetapan Kadar β -Karoten dalam Tablet Kunyah Spirulina

Sebanyak 20 tablet kunyah ditimbang lalu digerus. Diambil sebanyak 526 mg dan dimasukkan dalam labu takar 5 mL, ditambahkan etil asetat hingga tanda lalu kocok 10 menit. Larutan disaring menggunakan kertas *Whatman*. Filtrat ditotolkan bersama dengan larutan seri kadar kurva baku sebanyak 5 μl . Penetapan kadar dilakukan 3 kali replikasi. *Plate* dielusi kemudian dikeringkan pada tempat gelap selama 1 jam. Hasil totalan diamati di bawah lampu UV 254 nm. Kadar β -karoten dihitung berdasarkan persamaan kurva baku.

Penentuan Kadaluarsa Tablet Kunyah Spirulina

Berdasarkan Sinko (2011), tahapan pada penentuan waktu kadaluarsa obat yaitu:

- 1) Penentuan Orde Reaksi Degradasi Obat
Penentuan orde reaksi dilakukan pada suhu 40°C , 50°C , 60°C . Kadar β -karoten ditentukan pada hari ke-0, 7, 14, 21, 28. Nilai koefisien korelasi (r) ditentukan pada masing-masing suhu, dan jika yang linier (r^2 mendekati 1) adalah:
 - a) konsentrasi (C_t) vs waktu (t), maka kinetika degradasinya mengikuti orde ke-nol;
 - b) $\ln C_t$ vs t , maka kinetika degradasinya mengikuti orde pertama
 - c) $1/C_t$ vs t linier, maka kinetika reaksinya mengikuti orde kedua.
 - d) Penentuan Harga K Suhu Percobaan
Tahap ini menggunakan metode studi stabilitas dipercepat dengan

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

menggunakan dasar Hukum Arrhaenius dengan persamaan 2 yaitu:

$$\ln K = \ln A - \frac{Ea}{RT} \dots \dots \dots (2)$$

Data K (tetapan degradasi obat) yang diperoleh pada suhu 40°C, 50°C, dan 60°C dibuat persamaan regresi linier $\ln K$ vs $\frac{1}{T}$.

- 2) Penentuan Harga K Suhu Kamar
 Persamaan yang diperoleh dari regresi linier antara $\ln K$ vs $\frac{1}{T}$, diekstrapolasikan pada suhu

kamar, sehingga diperoleh nilai K pada suhu kamar.

- 3) Penentuan *shelf-life*
 Harga K digunakan untuk menghitung besarnya *shelf life* dan waktu kadaluwarsa. Rumus yang digunakan untuk penentuan *shelf life* dapat dilihat pada tabel II.
- 4) Penentuan waktu kadaluwarsa
 Tanggal kadaluwarsa didapatkan dari tanggal pembuatan ditambah *shelf-life* yang telah didapatkan pada tahap perhitungan sebelumnya

Tabel II. Penentuan *Shelf-life*

Orde	t_{90}	t_{95}
Ke-nol	$t_{90} = 0,1 C_0 / K_0$	$t_{95} = 0,05 C_0 / K_0$
pertama	$t_{90} = 0,105 / k_1$	$t_{95} = 0,051 / k_1$
kedua	$t_{90} = 0,1 / (0,90 [D_0] k_2)$	$t_{95} = 0,05 / (0,95 [D_0] k_2)$

Uji Mikrobiologi

- 1) Alat dan Bahan disterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C, 15 menit.
- 2) Pembuatan Media PCA
 Media PCA ditimbang sebanyak 4,375 gram. Kemudian media dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dilarutkan dengan akuades lalu ditambahkan akuades hingga batas 250 mL. Sterilasi dengan autoklaf 15 menit, suhu 121°C, kemudian didinginkan ($\pm 45^\circ\text{C}$).
- 3) Pembuatan Larutan Kloramfenikol 1%
 Kloramfenikol 250 mg sebanyak 2,5 gram dilarutkan dengan 250 mL akuades.
- 4) Pembuatan Media PDA
 Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 9,75 gram dan dimasukkan ke erlenmeyer. Setelah itu dilarutkan dengan larutan kloramfenikol 1% hingga 250 mL dan dikocok homogen.

Kemudian disterilkan dengan autoklaf 15 menit suhu 121° C. Setelah disterilkan kemudian didinginkan ($\pm 45^\circ\text{C}$).

- 5) Penanaman Sampel
 Tablet digerus dalam mortir steril, ditimbang sebanyak 10 gram. Sampel dimasukkan ke dalam wadah yang berisi 90 mL NaCl 0,9% steril (pengenceran 1:10) dan dikocok hingga homogen. Pengenceran dilakukan 1:100, 1:1000 dengan NaCl 0,9% steril. Larutan sampel masing masing pengenceran diambil 1 mL, kemudian dituangkan (*pour plate*) pada media PCA dan media PDA. Media TBX menggunakan larutan sampel pengenceran 1:100, kemudian diratakan dengan menggunakan *spreader* (metode cawan sebar). Media PCA dan TBX yang telah ditanami sampel diinkubasi suhu 37°C selama 24-48 jam. Media PDA yang telah ditanami sampel diinkubasi suhu 20°C-25°C selama 5-7 hari.

Jumlah koloni bakteri dan kapang khamir pada masing masing petri dengan berbagai pengeceran dihitung dengan metode SPC (*Standard Plate Count*) sel dalam sampel (CFU/gram).

Analisis Data

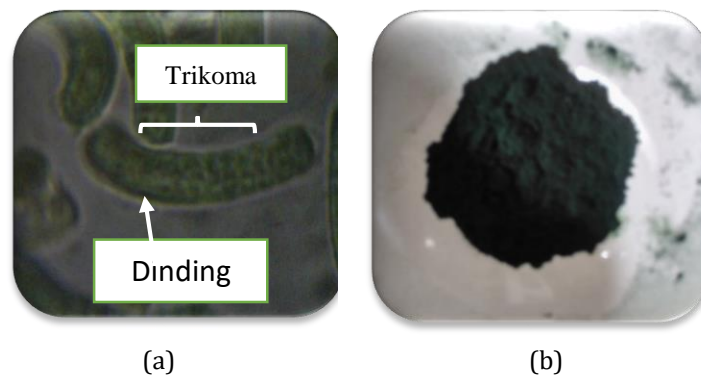
Kekerasan, kadar air tablet, hasil ALT dan AKK dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dengan menguji normalitas dan homogenitas dengan taraf kepercayaan 95%. Uji normalitas dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Uji homogenitas dilakukan dengan uji Levene untuk mengetahui varian data homogen atau tidak. Data dikatakan terdistribusi normal dan homogen apabila masing masing hasil uji menunjukkan signifikan lebih dari 0,05. Apabila hasil data terdistribusi normal dan homogen maka analisis selanjutnya dilakukan dengan metode parametrik yaitu uji ANOVA, jika diterima maka lanjut ke uji LSD untuk menunjukkan perbedaan yang signifikan antar pasangan kelompok perlakuan.

Apabila hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen atau salah satunya maka analisis selanjutnya dilakukan dengan metode non parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila hasil signifikan $<0,05$, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95% untuk membandingkan sampel dalam satu variabel. Apabila signifikan $>0,05$ berarti data berbeda tidak bermakna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Simplisia

Identifikasi simplisia ini bertujuan untuk memastikan bahwa serbuk yang digunakan benar benar serbuk *Spirulina platensis*. Serbuk Spirulina ini diperoleh dari seorang penjual yang bertempat tinggal di Klaten, Jawa Tengah. Hasil identifikasi tersebut diketahui bentuk mikroskopis maupun makroskopis yang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Mikroskopis (a) dan Makroskopis (b) *Spirulina platensis*

Menurut Lupatini *et al.*(2017) dan Saxena dkk. (2022) *Spirulina* sp. merupakan organisme autotrof yang berbentuk benang tersusun atas sel berbentuk silindris tanpa sekat pemisah (*septa*) berwarna hijau kebiruan yang memiliki filamen dengan bentuk heliks dan memiliki trikoma tidak bercabang. Hasil dari gambar 1 menunjukkan bahwa serbuk yang digunakan

adalah serbuk *Spirulina platensis*, karena memiliki ciri ciri seperti pernyataan Lupatini *et al.* (2017) dan yaitu memiliki makroskopis berwarna hijau kebiruan, berbau amis, rasa pahit dan memiliki mikroskopis berbentuk silindris yang memiliki filamen dengan bentuk helix (*spiral*) dan mempunyai trikoma.

Pembuatan Ekstrak Etanol 96% *Spirulina platensis*

Serbuk *Spirulina platensis* yang telah diidentifikasi, diekstraksi dengan pelarut etanol 96%. β -karoten memiliki sifat yang non polar, sehingga dengan menggunakan pelarut etanol 96% dapat diperoleh jumlah senyawa β -karoten yang maksimal sama seperti kelarutan senyawa tersebut dan ekstraksinya menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena prosesnya yang sederhana, tidak memerlukan suhu tinggi sehingga dapat mencegah kerusakan zat aktif yang tidak tahan dengan pemanasan. Hal ini berkaitan dengan ketidakstabilan zat aktif β -karoten yang bersifat mudah rusak dengan adanya pemanasan. Meskipun demikian, metode maserasi memiliki kelemahan penyarian kurang sempurna karena ada proses penjuanan dan penyariannya lama, sehingga untuk mengoptimalkan proses maserasi dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* dan penyarian kembali (remaserasi) (Saputra, Agustini and Dewi, 2014).

Ekstrak kental diperoleh dengan cara menguapkan cairan penyari pada sari etanol yang telah diperoleh pada proses maserasi. Penguapan pada suhu 50°C bertujuan agar zat aktif β -karoten tidak rusak, karena β -karoten akan mengalami perubahan stereoisomer akibat pemanasan (Hejri *et al.*, 2019). Alat *rotary evaporator* digunakan untuk menghindari panas yang berlebihan berkontak langsung dengan sari etanol sehingga dapat menjaga zat aktif yang terkandung di dalamnya tidak rusak dan kontak dengan udara dapat dihindarkan sehingga dapat mencegah proses oksidasi senyawa β -karoten oleh udara.

Rendemen yang diperoleh sebesar 7,135% lebih kecil dibandingkan rendemen Suhartini (2018) sebesar 11,12%. Besar kecilnya hasil rendemen yang diperoleh menunjukkan efektivitas proses ekstraksi. Efektivitas ekstraksi

dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis pelarut untuk menyari, ukuran partikel serbuk, metode dan lama ekstraksi serta suhu ekstraksi (Saputra, 2015). Ekstrak etanol *Spirulina* dilakukan uji bebas etanol secara kualitatif mempunyai tujuan untuk memastikan bahwa kandungan etanol sudah tidak ada lagi dalam ekstrak. Adanya etanol dalam ekstrak dapat mempengaruhi pengujian mikrobiologi tablet karena akan menghasilkan jumlah koloni yang semu.

Pembuatan Tablet Kunyah Ekstrak Etanol *Spirulina*

Sebelum dibuat tablet, ekstrak kental *Spirulina* dikeringkan dengan aerosil. Pemilihan aerosil sebagai pengering dikarenakan aerosil bersifat higroskopis/menyerap air tetapi dengan sifat tersebut masih memiliki sifat alir yang baik. Pembuatan tablet kunyah tersebut menggunakan metode kempa langsung dengan alasan menjaga kestabilan zat aktif yang tidak tahan oleh pemanasan. Pada penelitian ini menggunakan formula yang sudah dioptimasi antara pelicin aerosil 200 dan pelicin PEG 6000 dengan perbandingan 5:1, menggunakan ludipress sebagai bahan pengisi, dan sakarin sebagai pemanis untuk menutupi rasa pahit pada ekstrak *Spirulina* (Fatimah *et al.*, 2021).

Stabilitas Fisik Tablet Kunyah Ekstrak Etanol *Spirulina*

Organoleptis

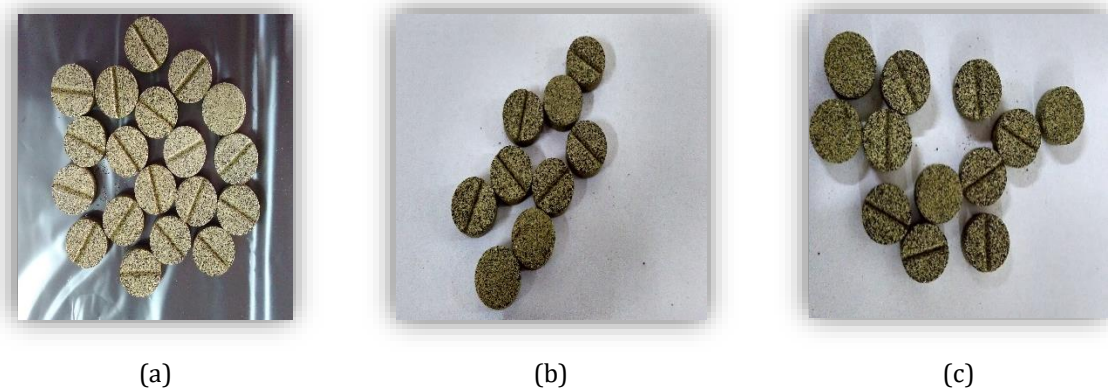
Tujuan dilakukannya uji organoleptis adalah untuk melihat kualitas dari tablet kunyah ekstrak etanol *Spirulina* dengan menggunakan indra penglihatan, perasa, penciuman dan indra peraba. Hasil gambar 2 menunjukkan pada hari ke-0, tablet kunyah dalam kondisi baik, tidak terdapat kerusakan, berwarna hijau pucat, rasa manis dan

sedikit pahit serta berbau amis. Pada hari ke-20, tablet kunyah masih dalam kondisi baik, tidak ada kerusakan, rasa manis dan pahit serta masih berbau amis, berwarna hijau dan mempunyai masalah *mottling* yaitu distribusi warna hijau tidak merata. Pada hari ke-40, tablet kunyah tidak ada perubahan bentuk, berwarna hijau lebih cerah dengan *mottling*, masih berbau amis dengan rasa manis dan pahit. Warna tablet kunyah dari hari ke-0 sampai hari ke-40 berubah menjadi hijau gelap karena tablet kunyah lembab.

Hal tersebut dikarenakan aerosil dan spirulina memiliki sifat higroskopis (Saputra, Agustini and Dewi, 2014). Aerosil yang digunakan sebagai pelicin dan pengering menyebabkan tablet kunyah menjadi lembab selama penyimpanan. Hasil uji organoleptis tersebut menunjukkan

bahwa tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tidak stabil secara fisik pada saat disimpan karena pada hari ke 20 sudah mengalami perubahan organoleptis.

Saputra *et al.* (2014) menyatakan dengan menambahkan serbuk Spirulina akan menutupi bercak putih bahan pengisi yang tidak homogen. Spirulina mengandung protein sebesar 24,327%, hal ini yang menyebabkan Spirulina berbau amis. Aroma amis yang khas pada Spirulina yang berasal dari *blue-green algae* yang menghasilkan senyawa geosmin dan metyl isoborneol (Insan *et al.*, 2004). Saputra *et al.* (2014) juga menyatakan banyaknya Spirulina yang digunakan berbeda nyata terhadap rasa tablet, tablet menjadi lebih pahit dengan penambahan Spirulina.



Gambar 2. Organoleptis tablet kunyah ekstrak etanol spirulina pada hari ke 0 (a), hari ke 20 (b), dan hari ke 40 (c)

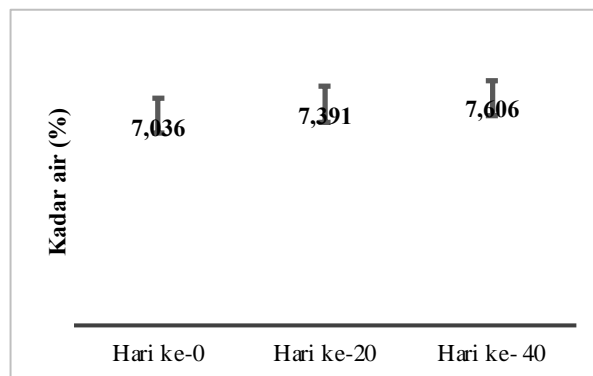
Kadar Air Tablet Kunyah

Hasil gambar 3 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka kadar air tablet kunyah semakin meningkat. Hasil ini berkorelasi dengan kekerasan tablet yang semakin lama semakin menurun. Berdasarkan Narang *et al.* (2012), air atau lembab yang terdapat dalam tablet dengan jumlah yang berlebihan akan menyebabkan stabilitas tablet terganggu. Gangguan tersebut dapat berasal dari reaksi kimia seperti terjadinya penguraian, oksidasi, reduksi

oleh cairan sebagai katalisator degradasi zat aktif, tablet akan mudah ditumbuhi oleh mikroba. Disamping itu, kadar air yang berlebihan berpengaruh pada kompresibilitas tablet karena air akan mengisi rongga antar tablet. Kadar air yang berlebihan juga akan menyebabkan tablet menjadi sulit terbasahi pada saat disolusi (Voight, 1989) sehingga menyebabkan tablet akan lebih sulit hancur di dalam lambung. Kadar air dalam tablet juga akan mempengaruhi daya serap yang berpengaruh pada waktu hancur tablet seperti

pada penelitian Viljoen dkk. (2014). Pada penelitian tersebut terbukti kadar air memiliki pengaruh yang cukup besar terhadap tabletabilitas

dan disintegrasi tablet yang dibuat dari serbuk kitosan.



Gambar 3. Hasil Uji Kadar Air Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

Sifat higroskopis aerosil dan Spirulina akan mempengaruhi kelembaban dari tablet. Aerosil yang memiliki gugus silanol mampu mengikat air dengan membentuk jembatan hidrogen. Semakin lama kontak dengan udara, maka tablet akan semakin lembab yang mengakibatkan kadar air tablet menjadi bertambah.

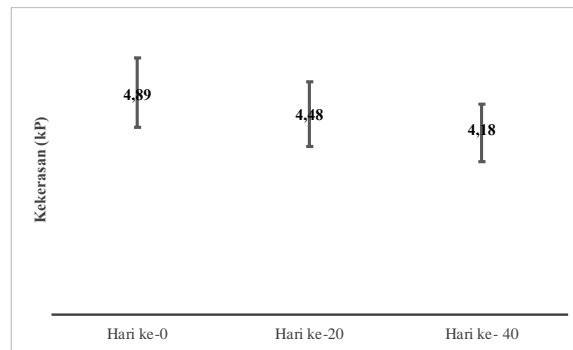
Meskipun kadar air mengalami peningkatan selama penyimpanan, kadar air tablet kunyah Spirulina masih memenuhi persyaratan yaitu $\leq 10\%$ (BPOM, 2019). Disamping itu, hasil analisis uji Mann Whitney menunjukkan kadar air hari 0 dengan hari 20, hari ke 0 dengan hari 40 dan hari 20 dengan hari 40 ada perbedaan tidak signifikan. Hasil tersebut menunjukkan kadar air tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina relatif stabil terhadap lama penyimpanan.

Kekerasan Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

Tablet kunyah dalam penggunaannya tidak memperlmasalahkan tingginya kekerasan tablet karena tablet kunyah terlebih dahulu dihancurkan secara mekanik di dalam mulut dengan adanya proses pengunyahan. Dengan demikian, tidak ada kekhawatiran terhadap tablet yang memiliki kekerasan tinggi tidak dapat hancur. Kekerasan tablet dipengaruhi oleh tekanan kompresi, sifat bahan yang dikempa serta jumlah dan jenis bahan pengikat yang digunakan.

Kekerasan meningkat dengan meningkatnya gaya kompresi sementara kerapuhan menurun. Densitas meningkat dengan meningkatnya gaya kompresi, sementara porositas menurun.

(Abul *et al.*, 2014). Kekerasan tablet kunyah Spirulina yang stabil dan memenuhi syarat kekerasan tablet kunyah antara 4-12 kPa akan menggambarkan kualitas fisik yang baik (FDA, 2018). Hasil peneltian ini disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji kekerasan tablet kunyah selama 40 hari

Gambar 4 menunjukkan bahwa penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina selama 40 hari memenuhi persyaratan 4-12 kPa (FDA, 2018). PEG 6000 yang terdapat dalam tablet selain berfungsi sebagai *lubricant* juga sebagai pengikat, sehingga adanya PEG 6000 akan mengikat lebih kuat antara partikel-partikel (Sugita, 2006). Namun adanya *Spirulina platensis* yang dapat menyerap air menyebabkan penurunan kompaktibilitas tablet (Saputra, 2015). Jumlah PEG 6000 dalam tablet yang tetap, tetapi kandungan air tablet kunyah meningkat menyebabkan penurunan kemampuan mengikat dari PEG 6000. Selain itu, Spirulina dan aerosil mengikat air dari udara sekitar menyebabkan terjadinya pembesaran porositas pada tablet sehingga kekerasan menurun dan tablet menjadi mudah rapuh.

Berdasar analisis uji Uji Mann-Whitney menghasilkan nilai signifikansi $<0,05$. Nilai tersebut menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kekerasan tablet kunyah yang disimpan selama 40 hari. Kekerasan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tidak stabil selama penyimpanan 40 hari.

Uji stabilitas kandungan β -karoten dalam tablet kunyah spirulina

Metode stabilitas dipercepat merupakan metode yang menggunakan suhu di atas suhu *real*

time yang bertujuan untuk mempercepat degradasi. Uji stres merupakan uji yang menggunakan kondisi penyimpanan ekstrim dengan menggunakan suhu di atas suhu *accelerated test* seperti suhu 50 °C, 60°C untuk meningkatkan kecepatan penguraian suatu obat. Tujuan dari uji ini adalah untuk menentukan parameter kinetik dalam waktu singkat sehingga waktu kadaluwarsa dapat diprediksi. Pada metode jangka panjang (*real time*) menggunakan suhu $30^{\circ}\text{C}\pm 2$, sedangkan suhu yang digunakan untuk stabilitas dipercepat (*accelerated test*) yaitu $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ (Bajaj, Singla and Sakhuja, 2012).

1) Penentuan panjang gelombang maksimum
Berdasarkan hasil pembacaan dengan KLT-densitometri, diperoleh panjang gelombang serapan maksimum standar β -karoten sebesar 453 nm, sehingga penetapan kadar mula mula β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina menggunakan panjang gelombang 453 nm.

2) Pembuatan kurva baku dan penetapan kadar mula-mula β -karoten dalam ekstrak etanol spirulina

Persamaan kurva baku hubungan antara kadar β -Karoten (x, dalam mg/ml) dan AUC (y, dalam mV) yang diperoleh adalah $y = 25556x + 12140$ dengan nilai r sebesar 0,9869. Penetapan kadar mula-mula bertujuan menentukan C_0 (kadar mula-mula) β -Karoten dalam tablet kunyah yang

digunakan untuk menghitung *shelf life*

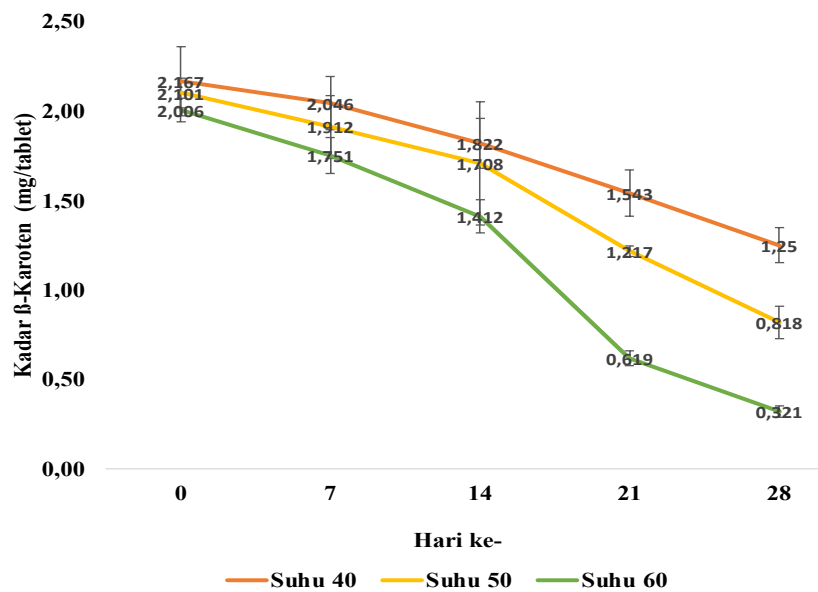
Tabel III. Kadar β -karoten dalam Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

AUC Sampel (mV)	Kadar (mg/tablet)
24213,5	2,382
24145,4	2,372
24744,1	2,487
Rata-rata \pm SD	2,414 \pm 0,064

Tabel III menunjukkan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina sebesar (2,414 \pm 0,064) mg/tablet. Kandungan β -karoten dalam 1 tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tersebut dapat memenuhi kebutuhan β -karoten dalam sehari 2400 μ g untuk balita dan 3600 μ g untuk orang dewasa (BPOM RI, 2003).

3) Penetapan Kadar β -Karoten dalam Ekstrak Etanol Spirulina 40°C, 50 °C dan 60 °C

Tujuan dari penetapan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 40°C, 50°C, 60°C hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28 adalah untuk melihat perbedaan kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina selama selang waktu 7 hari dan untuk menentukan *shelf life*. Penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 40°C, 50°C, 60°C bertujuan untuk mempercepat degradasi β -karoten sehingga waktu untuk penentuan *shelf life* lebih singkat.



Gambar 5. Kurva hubungan lama penyimpanan dan kadar β -karoten dalam Tablet Kunyah Ekstrak Etanol Spirulina

Gambar 5 menunjukkan bahwa kadar β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina mengalami penurunan selama selang waktu 7 hari. Hal ini dikarenakan β -karoten memiliki struktur ikatan rangkap terkonjugasi yang kaya elektron yang membuatnya tidak stabil

terhadap oksidasi, panas dan cahaya (Hejri *et al.*, 2019). Panas juga dapat menyebabkan β -karoten mengalami isomerisasi. Isomerisasi dapat menyebabkan penurunan intensitas warna dan titik cair (Legowo, 2005). Penurunan intensitas warna akan menyebabkan perubahan panjang

gelombang senyawa β -karoten ketika dideteksi dengan menggunakan KLT-densitometri.

4) *Shelf life* β -karoten

Penentuan *shelf life* β -karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina bertujuan untuk melihat masa obat dimulai diproduksi sampai senyawa β -karoten tinggal 90%. Sedangkan waktu kadaluwarsa yaitu waktu yang dinyatakan dalam bulan dan tahun yang mana obat tidak lagi memenuhi persyaratan. Dalam penentuan *shelf life*

dan waktu kadaluwarsa, terlebih dahulu melakukan penentuan orde reaksi, penentuan harga K pada berbagai suhu dan penentuan harga K pada suhu kamar. Pada penelitian ini, tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina menghasilkan orde reaksi ke-0 karena 3 suhu pengujian yaitu 40°C, 50°C dan 60°C menghasilkan nilai regresi (r) yang paling besar pada hasil regresi antara Ct (kadar) dengan t (waktu) yaitu 0,989 seperti pada tabel IV.

Tabel IV. Penentuan Orde reaksi

Hari (t)	Kadar (Ct, dalam mg/tablet)								
	40°C			50 °C			60 °C		
	Ct	Ln Ct	$\frac{1}{Ct}$	Ct	Ln Ct	$\frac{1}{Ct}$	Ct	Ln Ct	$\frac{1}{Ct}$
0	2,167	0,773	0,461	2,101	0,742	0,476	2,006	0,696	0,498
7	2,046	0,716	0,489	1,912	0,648	0,523	1,751	0,560	0,571
14	1,822	0,600	0,549	1,708	0,535	0,585	1,412	0,345	0,708
21	1,543	0,434	0,648	1,217	0,196	0,822	0,619	-0,480	1,616
28	1,250	0,223	0,800	0,818	-0,201	1,222	0,321	-1,136	3,115
R	-0,989	-0,977	0,960	-0,980	-0,956	0,920	-0,981	-0,953	0,895
B	-0,033	-0,020	0,012	-0,046	-0,033	0,026	-0,064	-0,067	0,090
A	2,233	0,826	0,422	2,203	0,852	0,367	2,122	0,938	0,046

Tabel V. penentuan harga K pada berbagai suhu

Suhu (°C)	Suhu (T dalam K)	$\frac{1}{T}$	K (mg/hari)	Ln K
40	313	$3,195 \pm 10^{-3}$	0,033	-3,411
50	323	$3,096 \pm 10^{-3}$	0,046	-3,079
60	333	$3,003 \pm 10^{-3}$	0,064	-2,749

Selanjutnya melakukan penentuan harga K pada berbagai suhu yang diperoleh dari nilai negative *slope* masing masing suhu. Tabel V menunjukkan suhu 60°C mempunyai nilai K lebih besar dibandingkan suhu 40°C dan suhu 50°C. Hal ini dikarenakan semakin tinggi suhu penyimpanan maka kecepatan degradasi β -karoten menjadi meningkat. Harga K pada suhu kamar (25°C)

ditentukan dari persamaan Arrhenius yang dibuat regresi linier hubungan antara $\ln K$ vs $\frac{1}{T}$ yang menghasilkan persamaan $\ln K_0 = -3446,903 \frac{1}{T} + 7,599$. Dari persamaan yang dihasilkan dapat disubstitusikan pada suhu kamar, sehingga diperoleh nilai K suhu kamar (25°C) sebesar 0,019 mg /hari.

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Hasil dari nilai K suhu kamar (25°C) mempunyai *shelf life* β-karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina suhu 25°C dengan rumus $\frac{0,10 CO}{Ko}$ sebesar 12 hari dan $t \frac{1}{2}$ diperoleh selama 64 hari. Penentuan *shelf life* β-karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 5°C dengan metode Q₁₀. Nilai Q₁₀ sering dibuat dengan menggunakan nilai 3 yang sebanding dengan nilai energi aktivasi sebesar 19,4 kkal/mol (Yowono, Binarjo and Edityaningrum, 2015). Dari hasil perhitungan dengan metode Q₁₀, *shelf life* β-karoten dalam tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina pada suhu 5°C selama 4 bulan. Dari hasil tersebut penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol yang sesuai pada suhu 5°C (di dalam kulkas), karena memiliki *shelf life* lebih lama dibandingkan *shelf life* pada penyimpanan pada suhu 25°C.

Stabilitas Mikrobiologi

Pengkondisian uji mikrobiologi

Langkah awal penelitian ini dimulai dengan pengenceran sampel 1:10, 1:100 dan 1:1000 dengan menggunakan larutan NaCl 0,9% untuk memudahkan menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada *Plate Count Agar* (PCA) untuk uji ALT, memudahkan menghitung koloni kapang khamir yang tumbuh pada *Potato Dextrosa Agar* (PDA) untuk uji AKK dan pengenceran 1:100 untuk uji kualitatif *E-coli* dengan media TBX. Larutan NaCl 0,9% merupakan larutan isotonis yang kondisinya seperti cairan yang ada di dalam tubuh, sehingga bakteri dan kapang khamir dapat tumbuh dengan menggunakan larutan ini. PCA sebagai media pertumbuhan yang mengandung banyak nutrisi yang diperlukan oleh bakteri sehingga bakterinya akan tumbuh dengan baik. PDA merupakan media yang digunakan untuk memacu produksi konidia oleh fungi, sedangkan TBX

sebagai media yang memberikan reaksi warna hijau kebiruan jika positif *E-coli*. Penanaman sampel pada penelitian ini menggunakan metode cawan tuang (*pour plate*) yang memiliki kelebihan dapat mengetahui bakteri aerob dan anaerob. Bakteri aerob akan berada diatas (oksigen), sedangkan bakteri anaerob berada di dalam media.

Untuk menghasilkan koloni bakteri yang sebenarnya dari sampel, maka penyimpanan sampel dalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 37°C dengan masa inkubasi 24-48 jam. Hal ini dikarenakan, apabila terjadi pengembunan pada media selama inkubasi akan mengakibatkan kontaminasi, maka dengan posisi terbalik airnya tidak menetes pada media, tetapi akan menetes pada tutup cawan petri. Sedangkan uji AKK, penyimpanan sampel pada suhu 20°C-25°C masa inkubasi selama 5-7 hari dengan posisi tidak terbalik. Untuk mencegah tumbuhnya bakteri pada uji AKK yang dapat mengganggu perhitungan koloni kapang khamir maka perlu ditambahkan antibiotik kloramfenikol sebesar 1%.

Uji Angka Lempeng Total

Pada prinsipnya perhitungan angka lempeng total ini hanya untuk melihat jumlah total bakteri berupa bakteri patogen maupun non patogen dalam suatu sampel, dan hanya melihat secara empiris saja, karena setiap spesies bakteri dalam pertumbuhannya membentuk koloni sendiri. Persyaratan mutu untuk sediaan yaitu cemaran mikroba seperti ALT $\leq 10^4$ CFU/gram (BPOM, 2019).

Hasil tabel VI menunjukkan bahwa ALT tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina memenuhi persyaratan $\leq 10^4$ CFU/gram dan adanya pertumbuhan jumlah koloni bakteri selama penyimpanan 40 hari. Hal ini dikarenakan adanya kandungan air dalam tablet dan adanya oksigen (udara) di dalam wadah penyimpanan tablet. Air

dan oksigen merupakan faktor pertumbuhan bakteri selain itu tablet tidak menggunakan bahan pengawet sehingga tidak ada zat yang menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel VI. Angka lempeng total pada Hari ke-0,20, dan 40

Hari ke-	Angka lempeng total ± SD (CFU/gram)
0	$7 \times 10^2 \pm 2,4 \times 10^2$
20	$2,6 \times 10^3 \pm 0,4 \times 10^3$
40	$4,2 \times 10^3 \pm 0,7 \times 10^3$

Hasil uji LSD pengaruh lama penyimpanan terhadap ALT tablet kunyah menunjukkan nilai signifikansi <0,05. Hal tersebut menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada nilai ALT karena pengaruh lama penyimpanan. Berdasar hasil tersebut, lama penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina selama 40 hari menunjukkan hasil yang tidak stabil yang menyebabkan peningkatan ALT secara signifikan.

Uji Angka Kapang Khamir

Cemaran fungi melebihi batas yang telah ditentukan akan mempengaruhi stabilitas sediaan

obat dan terdapat banyak mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan. Salah satu mikotoksin adalah aflatoksin yang dapat menyebabkan kanker, terutama Aflatoksin B1 merupakan aflatoksin yang paling toksik (IARC, 2002). Kondisi yang lembab merupakan tempat tumbuhnya kapang khamir. Tablet dengan bahan tambahan yang bersifat higroskopis akan lebih mudah lembab Hal ini yang menyebabkan kapang dan khamir mengalami pertumbuhan di dalam tablet. Hasil uji AKK dapat dilihat pada tabel VII.

Tabel VII. Angka kapang khamir pada hari ke-0, 20, dan 40

Hari ke-	Angka kapang khamir ± SD (CFU/gram)
0	$1,5 \times 10^3 \pm 2 \times 10^2$
20	$1,9 \times 10^3 \pm 1 \times 10^2$
40	$4,2 \times 10^3 \pm 2 \times 10^3$

Hasil dari tabel VII menunjukkan bahwa AKK tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina melebihi batas persyaratan AKK tablet yaitu sebesar $\leq 10^3$ CFU/gram. Hal ini dikarenakan kapang khamir sudah terbentuk selama penyimpanan ekstrak dan mengalami pertumbuhan selama penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina karena tablet tidak menggunakan bahan pengawet

sehingga tidak ada yang menghambat pertumbuhan kapang khamir. Selain itu, pertumbuhan angka kapang khamir dapat disebabkan karena tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina menyerap air dari udara sekitar yang disebabkan oleh sifat higroskopis dari Spirulina dan aerosil. Hal ini yang menyebabkan tablet menjadi lembab. Lembab merupakan tempat

tumbuhnya kapang dan khamir. Proses penyerapan air dari udara oleh tablet dapat dikarenakan wadah dan tutup wadah tablet yang kurang kedap udara sehingga menyebabkan udara masuk ke dalam wadah.

Hasil perhitungan uji mann-whitney AKK tablet kunyah pada penyimpanan hari ke-0 hingga hari ke 40 diperoleh nilai signifikansi $>0,05$. Hasil tersebut menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pertumbuhan kapang khamir yang dapat disebabkan pertumbuhan AKK lebih lambat dibandingkan pertumbuhan bakteri. Berdasar hasil analisis tersebut, lama penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina tidak mempengaruhi pertumbuhan terhadap jumlah koloni kapang khamir (angka kapang khamir).

Uji Kualitatif Bakteri *E.coli*

Tujuan uji kualitatif untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan *E.coli* pada sampel. Berdasarkan hasil pengujian 3 waktu yaitu hari ke 0, hari ke 20 dan hari ke 40 tidak menghasilkan perubahan warna media TBX menjadi hijau kebiruan. Warna hijau kebiruan pada media TBX menunjukkan bahwa sampel positif terdapat bakteri *E.coli*. Berdasar hasil tersebut, tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina negatif terhadap bakteri *E.coli*.

KESIMPULAN

Berdasar hasil penelitian diatas maka lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap kekerasan tablet, nilai ALT tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina dan tablet kunyah tersebut mengalami perubahan warna yaitu warna hijau menjadi lebih cerah, tidak ada perubahan bentuk, mempunyai masalah *mottling*, masih berasa pahit dan bau amis selama penyimpanan 40 hari. Sedangkan lama penyimpanan berpengaruh tidak

signifikan terhadap kadar air dan nilai AKK tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina. *Shelf life* yang diperoleh pada suhu 25°C selama 12 hari dan $t\frac{1}{2}$ selama 64 hari sedangkan pada suhu 5°C memiliki *shelf life* selama 4 bulan. Sehingga penyimpanan tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina yang sesuai pada suhu 5°C (kulkas). Selama penyimpanan 40 hari tablet kunyah ekstrak etanol Spirulina memenuhi persyaratan mutu nilai ALT yaitu $\leq 10^4$ CFU/gram dan negatif terhadap bakteri *E.coli* sedangkan nilai AKK tidak memenuhi persyaratan karena $\geq 10^3$ CFU/gram.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami sampaikan kepada Kemenristek DIKTI atas dana Hibah Bersaing tahun 2016, sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abul, M. *et al.* (2014) 'Affect Of Granule Sizes, Types And Concentrations Of Lubricants And Compression Forces On Tablet Properties', *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(11).
- Bajaj, S., Singla, D. and Sakhuja, N. (2012) 'Stability testing of pharmaceutical products', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. doi: 10.7324/JAPS.2012.2322.
- BPOM (2019) 'Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional', *Badan Pengawas Obat dan Makanan*.
- BPOM RI (2003) *Acuan Pencantuman Persentase Angka Kecukupan Gizi pada Label Produk Pangan*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Buhler (2001) *Generic Drug Formulation 4th Edition*. BASF Fine Chemicals.
- Colla, L. M., Furlong, E. B. and Costa, J. A. V. (2007) 'Antioxidant properties of Spirulina (*Arthrospira*) platensis cultivated under different temperatures and nitrogen regimes', *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(1). doi: 10.1590/S1516-89132007000100020.
- Erlila, N. (2017) *Skirining Fitokimia dan uji aktivitas Fraksi N- Heksan-Dietil Eter Buah*

- Paprika Merah (Capsicum Annum L) Dengan Metode DPPH*. Universitas Ahmad Dahlan.
- Fatimah, S. F. *et al.* (2021) 'Optimization Formulation of Spirulina platensis Chewable Tablet', in *Proceedings of the 1st Annual International Conference on Natural and Social Science Education (ICNSSE 2020)*. doi: 10.2991/assehr.k.210430.015.
- FDA (2018) *Quality Attribute Considerations for Chewable Tablets Guidance for Industry*. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.
- Hejri, A. *et al.* (2019) 'Effect of edible antioxidants on chemical stability of β -carotene loaded nanostructured lipid carriers', *LWT*, 113. doi: 10.1016/j.lwt.2019.108272.
- IARC (2002) *Aflatoxin*. 82nd edn. IARC Monographs 8.
- Indayanti, D. (2014) *Uji Stabilitas Fisik dan Komponen Kimia pada Minyak Biji Jinten Hitam (Nigella Sativa L.) dalam Bentuk Emulsi Tipe Minyak dalam Air Menggunakan GCMS, Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Insan, I. *et al.* (2004) 'Penyebab ikan bercita rasa lumpur dan penanganannya untuk konsumsi', *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan* 2, 1, pp. 79–84.
- Legowo, A. (2005) *Pengaruh Blanching terhadap Sifat Sensoris dan Kadar Provitamin Tepung Labu Kuning*. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Lupatini, A. L. *et al.* (2017) 'Potential application of microalga Spirulina platensis as a protein source', *Journal of the Science of Food and Agriculture*. doi: 10.1002/jsfa.7987.
- Narang, A. S., Desai, D. and Badawy, S. (2012) 'Impact of excipient interactions on solid dosage form stability', *Pharmaceutical Research*. doi: 10.1007/s11095-012-0782-9.
- Rahayu and Ari, R. (2018) *Efek Iritasi dan Stabilitas Fisik Gel Yang Mengandung Fraksi Air Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen), Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Resti, L. and Ilza, M. (2016) 'The Stability Of Fish Oil Jambal Siam (Pangasius Hypophthalmus) In Plastic Bottles And Glass During Storage', *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan*, 3(2), pp. 1–9.
- Rumengan, A. P. and Mantiri, D. A. (2015) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga *Dictyosphaeria cavernosa* dari Perairan Teluk Manado', *LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 2.
- Saputra, J. S. E., Agustini, T. W. and Dewi, E. N. (2014) 'Pengaruh Penambahan Biomassa Serbuk Spirulina platensis Terhadap Sifat Fisik, Kimia, Dan Sensori Pada Tablet Hisap (Lozenges)(Biomass Utilization of Spirulina platensis Powder in The Manufacture of Lozenges)', *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, pp. 281–291.
- Saputra, M. Z. M. (2015) *Stabilitas Melatonin dalam Tablet Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (Spirogyra orthospira) Selama Penyimpanan Pada Suhu Kamar (29-30 °C) dan Suhu Kulkas (3-5 °C), Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Saxena, R. *et al.* (2022) 'Strategy Development for Microalgae Spirulina platensis Biomass Cultivation in a Bubble Photobioreactor to Promote High Carbohydrate Content', *Fermentation*, 8, p. 374.
- Sinko, P. J. (2011) *Farmasi Fisika dan Ilmu Farmasetika*. 5th edn. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sugiharto, E. and Ayustaningwarno, F. (2014) 'Kandungan Zat Gizi Dan Tingkat Kesukaan Roti Manis Substitusi Tepung Spirulina Sebagai Alternatif Makanan Tambahan Anak Gizi Kurang', *Journal of Nutrition College*, 3(4). doi: 10.14710/jnc.v3i4.6909.
- Sugita, S. (2006) *Pengaruh Kadar PEG 6000 terhadap Mutu Fisik Tablet Ekstrak Mengkudu dalam Dispersi Padat Ekstrak Mengkudu-PEG 6000 yang Dibuat secara Cetak Langsung*. Universitas Airlangga.
- Suhartini (2018) *Uji Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol 96% Spirulina maxima, Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Viljoen, J. M. *et al.* (2014) 'Effect of moisture content, temperature and exposure time on the physical stability of chitosan powder and tablets', *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(6). doi: 10.3109/03639045.2013.782501.
- Voight (1989) *Buku Ajar Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: YGM Press.
- Yowono, T., Binarjo, A. and Edityaningrum, C. (2015) *Buku Ajar Farmasi Fisik*. Yogyakarta.: Fakultas Farmasi Ahmad Dahlan.

ARTIKEL

KARAKTERISTIK KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* W.) terhadap *Staphylococcus aureus*

CHARACTERISTICS of BAY LEAF (*Syzygium polyanthum* W.) ETHANOL EXTRACT CREAM On *Staphylococcus aureus*

Lina Widiyastuti^{1*}, Gusti Firdaus Al Hadhi Lesay¹, Widyasari Putranti¹

¹Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmand Dahlan

ABSTRACT

The ethanol extract of bay leaves contains tannin, flavonoid, and essential oil showing antibacterial properties. This research aimed to determine the effectiveness of the ethanol extract cream of bay leaves as an antibacterial against *Staphylococcus aureus*. The research was conducted by preparing three formulations/compositions containing extract concentration at 20% (F1), 30% (F2), and 40% (F3). The cream was tested for its physical characteristics, including organoleptic, viscosity, homogeneity, pH, adhesion and spreadability, and antibacterial activity test against *Staphylococcus aureus*. The test results showed that all cream formulas produced were homogeneous, having a viscosity (cPs) of 6337.99 ± 264.08 ; 10852.68 ± 488.38 , and 13165.26 ± 602.41 respectively, for F1, F2, and F3 in line with the spreading diameter (cm) which decreased from F1 to F3 by 6.31 ± 0.05 ; 5.81 ± 0.12 ; and 4.05 ± 0.05 . The cream has a pH of 7.67 ± 0.02 ; 7.69 ± 0.01 ; 7.24 ± 0.17 . And adhesion time (seconds) 5.91 ± 0.18 ; 12.90 ± 0.53 ; 33.74 ± 1.2 . The cream was shown to be effective against *Staphylococcus aureus* with an inhibition zone value (mm) of 13.50 ± 0.5 ; 13.50 ± 1 ; 13.67 ± 0.2 . Based on the data, the ethanol extract of bay leaves can be formulated into cream preparations showing physical characteristics that meet the requirements and have a strong antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: extract, cream, *Staphylococcus aureus*, *Syzygium polyanthum*

ABSTRAK

Ekstrak etanol daun salam memiliki kandungan tanin, flavonoid, dan minyak atsiri yang berkhasiat sebagai antibakteri. Penelitian dilakukan untuk mengetahui efektifitas krim ekstrak etanol daun salam sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilakukan dengan membuat 3 formula krim dengan konsentrasi ekstrak berturut-turut sebesar 20% (F1), 30% (F2), dan 40% (F3). Krim selanjutnya diuji karakter fisiknya meliputi organoleptis, viskositas, homogentitas, pH, daya lekat, dan daya sebar. Uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan pada formula krim dengan karakteristik fisik yang memenuhi persyaratan. Hasil uji menunjukkan bahwa semua formula krim yang dihasilkan homogen, memiliki viskositas (cPs) sebesar $6337,99 \pm 264,08$; $10852,68 \pm 488.38$ dan $13165,26 \pm 602,41$ berturut-turut untuk F1, F2, dan F3 sejalan dengan diameter sebarannya (cm) yang menurun dari F1 ke F3 sebesar $6.31 \pm 0,05$; $5,81 \pm 0,12$ dan $4,05 \pm 0,05$. Krim memiliki pH $7,67 \pm 0,02$; $7,69 \pm 0,01$; $7,24 \pm 0,17$ dan waktu lekat (detik) $5,91 \pm 0,18$; $12,90 \pm 0,53$; $33,74 \pm 1,2$. Krim menunjukkan efektif terhadap *Stapylococcus aureus* dengan nilai zona hambat (mm) $13,50 \pm 0,5$; $13,50 \pm 1$; $13,67 \pm 0,2$. Berdasarkan data yang diperoleh ekstrak etanol daun salam dapat diformulasi menjadi krim dengan karakter fisik yang memenuhi persyaratan dan memiliki efek antibakteri kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: ekstrak, krim, *Staphylococcus aureus*, *Syzygium polyanthum*

PENDAHULUAN

Daun salam memiliki kandungan senyawa kimia yang terdiri dari tanin, flavonoid, dan minyak atsiri, termasuk asam sitrat dan eugenol

(Sumono & SD, 2008). Dalam beberapa penelitian disebutkan daun salam dapat digunakan pada pengobatan diabetes mellitus (Silalahi, 2017), antioksidan (Wong et al, 2006), antikolesterol (Prahastuti et al, 2011), dan antimikroba (Lau et al, 2015).

Dalam penelitian Ismail, dan Wan Ahmad (2019) serta Silalahi (2017), disebutkan bahwa ekstrak daun salam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, serta menunjukkan efek terhadap beberapa jamur seperti *Akternaria alternate*, dan *Colletotrichum capsicii*. Senyawa dalam daun salam yang memberikan efek antibakteri diantaranya adalah flavonoid yang dapat mendenaturasi protein sehingga terjadi kerusakan pada dinding sel bakteri, tanin mengganggu permeabilitas membrane sel bakteri, dan alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Tammi et al, 2018).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif. Bakteri ini pada umumnya tumbuh di atas lapisan mukosa kulit dan selaput lendir pada manusia. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *S. aureus* di antaranya adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Bakteri ini juga merupakan penyebab infeksi nosocomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Ryan et al, 1994; Warsa, 1994). Dikarenakan bakteri ini umum dijumpai pada kulit manusia maka krim cocok digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri *S. aureus*.

Untuk mempermudah dalam penggunaan, ketepatan dosis, serta higienitas apabila dibandingkan dengan digunakan secara langsung, maka ekstrak etanol daun salam perlu dibuat menjadi krim. Krim yang baik umumnya memiliki

sifat yaitu stabil, lunak, homogen, mudah digunakan, serta mudah dihilangkan pada kulit. Untuk memperoleh krim yang baik maka perlu dilakukan formulasi. Menurut Farmakope Indonesia edisi VI, krim merupakan sediaan produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam lemak atau alcohol berantai Panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Timbangan analitik (*Ohaus*), glassware (*Pyrex*), mortir dan stamper, cawan porselen, waterbath (*Memmert*), Viscometer Rheosys Merlin VR, pH meter (*Ohaus*), alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, cawan petri, tabung reaksi, blue tip, yellow tip, incubator (*Memmert*), autoclave (*Shenan*), spreader, jarum ose, pembakar bunsen, mikropipet (*Socorex*), penggaris, alat pelubang steril, magnetic stirrer (*Thermo*), BSC (*Monmouth*).

Bahan yang digunakan pada pembuatan sediaan krim adalah: ekstrak etanol daun salam yang sudah distandarisasi dan teridentifikasi kandungannya, yang didapat dari tim peneliti di Laboratorium Universitas Ahmad Dahlan (UAD) Yogyakarta. Bahan tambahan dengan derajat farmasetis : asam stearat, trietanolamin (TEA), paraffin cair, adeps lanae, nipagin dan aquadest. Untuk pengujian efek antibakteri diperlukan *Staphylococcus aureus* dan bahan lain, antara lain NaCl fisiologis 0,9%, media agar MHA (*Muller Hinton Agar*), dan NA (*Nutrient Agar*).

Pembuatan Sediaan Krim

Krim dibuat dengan bahan-bahan seperti pada tabel berikut:

Tabel 1. Formula Krim Ekstrak Etanol Daun Salam

Nama Bahan	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Ekstrak etanol daun salam	20%	30%	40%
Asam stearat	16%	16%	16%
Trietanolamin (TEA)	7%	7%	7%
Parafin cair	10%	10%	10%
Adeps lanae	3%	3%	3%
Nipagin	0,15%	0,15%	0,15%
Aquadest (ad)	100%	100%	100%

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk membuat sediaan krim, sesuai dengan table I, ditimbang untuk 50 gram krim dari masing-masing formula. Dibuat fase minyak dengan cara mencampurkan paraffin cair, adeps lanae, dan asam stearat diatas penangas air dengan suhu 75°C. Fase air dibuat dengan mencampurkan aquadest dan trietanolamin (TEA) dalam cawan porselen, dihangatkan diatas penangas air dengan suhu 75°C. Selanjutnya fase air dan fase minyak di campur dan diaduk homogen hingga terbentuk basis krim di dalam mortir yang telah dihangatkan. Berikutnya ditambahkan ekstrak etanol daun salam sesuai yang tertera pada formula, dan diaduk hingga homogen.

Uji Sifat Fisik Sediaan Krim

Uji Organoleptik

Pengujian ini dilakukan dengan mengamati sediaan krim, hal yang diamati meliputi warna, bau, dan konsistensi krim.

Uji Viskositas

Pengukuran viskositas sediaan dilakukan dengan menggunakan alat Viskosimeter Rheosys Merlin VR menggunakan spindle cone and plate 2.0/30 mm. Parameter pengukuran diatur sama sehingga semua formula mengalami perlakuan yang sama, lalu dijalankan melalui komputer dengan perangkat lunak Rheosys micra (Puspita *et al*, 2020).

Uji Homogenitas

Krim ditimbang 1 gram kemudian oleskan pada sekeping kaca transparan. Diamati jika masih ada partikel-partikel kasar dan terjadi pemisahan fase pada krim (Apitalau, *et al* 2021).

Uji pH

Krim ditimbang 1 gram, selanjutnya diencerkan dengan aquadest 10 ml. Elektroda pH meter dimasukkan dalam sediaan krim yang telah diencerkan dengan aquades (Azkiya *et al*, 2017).

Uji Diameter Sebar

Krim ditimbang 1 gram, selanjutnya diletakkan ditengah kaca alat uji. Kaca penutup yang telah ditimbang diletakkan di atas massa krim dan dibiarkan selama 1 menit. Diukur diameter krim yang menyebar. Selanjutnya ditambahkan bebans 150 gram, didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameter krim yang menyebar.

Uji Daya Lekat

Krim ditimbang 500 mg diletakkan di atas gelas objek yang telah ditentukan luasnya. Gelas objek yang lain diletakkan di atas krim dan ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Selanjutnya pasang objek gelas pada alat uji. Beban seberat 80 gram dilepaskan dan catat waktu yang diperlukan sampai kedua gelas objek terlepas (Azkiya et al, 2017).

Uji Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Biakan bakteri diambil satu ose dari tabung reaksi. Ose digoreskan pada media agar, dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Satu ose koloni *Staphylococcus aureus* diambil dari media padat ke tabung reaksi yang telah berisi 5 mL larutan NaCl fisiologis 0,9%. Standarisasi kekeruhan suspensi koloni dengan standar 0,5 McFarland 108 CFU/ml (Nurhayati et al, 2020). Dilanjutkan dengan pengenceran sebanyak 100 kali menggunakan NaCl fisiologis 0,9%, konsesentrasi suspensi bakteri 106 CFU/ml (Siahaan, 2013).

Suspensi bakteri dengan konsentrasi 106 CFU/ml yang telah dibuat diinokulasikan pada media Mueller Hinton Agar (MHA) sebanyak 100µl menggunakan mikropipet, ratakan dengan spreader, diamkan hingga suspensi bakteri meresap ke media agar. Buat sumuran pada media menggunakan alat pelubang steril, masukkan sampel uji kedalam sumuran, dilanjutkan dengan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

(Nurhayati et al,2020). Sebagai kontrol positif digunakan krim neomycin sulfat, dan basis krim sebagai kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Krim Ekstrak Etanol Daun Salam

Pembuatan krim diawali dengan mengelompokkan bahan dalam formula menjadi kelompok fase air dan fase minyak. Untuk mempermudah pencampuran, bahan-bahan fase minyak di leburkan dengan cara dipanaskan diatas penangas air dengan suhu 75°C. Untuk mempermudah pencampuran fase air dan fase minyak, maka fase air juga dihangatkan terlebih dahulu. Kedua fase diaduk cepat hingga terbentuk basis krim dalam mortar hangat untuk mencegah pengumpulan fase. Setelah terbentuk basis krim ditambahkan ekstrak etanol daun salam dan diaduk homogen. Krim yang terbentuk duji sifat fisiknya yang meliputi:

Uji Organoleptis

Uji ini dilakukan untuk mengetahui tampilan fisik krim krim yang meliputi, warna, bau dan konsistensi sediaan. Adapun hasil uji organoleptis semua formula krim ekstrak etanol daun salam memberikan warna cokelat kehijauan, bau khas daun salam, dan konsistensi semi solid.

Uji Viskositas

Uji ini dilakukan untuk viskositas sediaan. Masing-masing formula menunjukkan sifat alir pseudoplastis, dimana semakin besar laju geser yang diberikan, maka viskositas akan semakin menurun. Krim yang baik memiliki viskositas sebesar 4000-40.000 cPs. Hasil uji viskositas disajikan pada tabel II.

Tabel II. Hasil uji viskositas krim

Formula	Viskositas (cPs)
F1	6337,99 ± 264,08
F2	10852,68 ± 488,38
F3	13165,26 ± 602,41

Berdasarkan data pada tabel di atas seluruh formula krim memiliki viskositas sediaan yang baik. Meskipun demikian adanya perbedaan 46umlah ekstrak pada masing-masing formula berpengaruh signifikan terhadap nilai viskositas sediaan. Hal ini dikarenakan prosentase 46umlah ekstrak yang bertambah pada masing-masing formula menyebabkan krim semakin kental.

Uji Homogenitas

Uji ini dilakukan dengan pengamatan secara visual krim yang telah dioleskan pada kaca uji. Sediaan krim yang baik harus tidak terjadi pemisahan antara komponen penyusun dari sediaan krim (Azkiya et al, 2017). Hasil uji homogenitas semua formula krim tidak menunjukkan adanya partikel kasar maupun terjadi pemisahan antar komponen. Sehingga berdasarkan hasil pengamatan secara visual menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam mampu bercampur dengan basis krim karena sifatnya yang semipolar.

Uji pH Sediaan

Uji ini dilakukan dengan menggunakan pH meter yang terkalibrasi, dan berikut ini adalah hasil pengujian pH dari sediaan krim ekstrak etanol daun salam yang tersaji dalam tabel III.

Tabel III. Hasil uji pH krim

Formula	pH
F1	7,67 ± 0,02
F2	7,69 ± 0,01
F3	7,24 ± 0,17

Data di tabel III menunjukkan sediaan krim ekstrak etanol daun salam memenuhi persyaratan pH sediaan krim menurut SNI 16-4954-1998, dengan range pH 3,5 – 8, tetapi tidak sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5. Hal ini disebabkan adanya bahan TEA yang bersifat basa yang bereaksi dengan asam stearate untuk membentuk sabun anionic dengan reaksi netralisasi, penambahan bahan TEA akan mempercepat proses netralisasi dan meningkatkan nilai pH (elcistia dan zulkarnain, 2019). Penambahan ekstrak etanol pada ketiga formula memberikan nilai pH yang berbeda secara signifikan <0,05. Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun salam dapat menurunkan pH karena ada kandungan flavonoid yang bersifat asam (Alvianti dan Fitri, 2018). Penambahan *adjustment agent* seperti NaOH secukupnya pada saat pembuatan sediaan dapat dilakukan, hingga pH mencapai range 4,5–6,5 (Pamuladiman dan Widiyastuti, 2021).

Uji Diameter Sebar

Uji dilakukan untuk mengetahui kemampuan menyebar krim, digunakan alat uji diameter sebar, dengan beban 150 gram. Konsentrasi ekstrak dalam formula berpengaruh signifikan (p < 0,05%) terhadap diameter sebar sediaan. Hal ini selaras dengan hasil uji viskositas krim. Semakin besar konsentrasi ekstrak dalam formula maka viskositas sediaan juga semakin meningkat dan diameter sebar semakin menurun. Krim idealnya memiliki diameter sebar 5-7 cm. Adapun data uji daya sebar disajikan pada tabel IV.

Tabel IV. Hasil uji diameter sebar krim

Formula	Diameter sebar (cm)
F1	6,31 ± 0,05
F2	5,81 ± 0,12

F3	4,05 ± 0,05
----	-------------

Uji Waktu Lekat

Uji ini dilakukan untuk mengetahui lamanya sediaan melekat di kulit. Uji ini perlu dilakukan untuk memastikan sediaan cukup memiliki waktu guna melepaskan zat aktifnya sesuai tujuan penggunaan. Hasil uji waktu lekat krim ekstrak etanol daun salam tersaji pada tabel V.

Tabel V. Hasil uji waktu lekat krim

Formula	Waktu lekat (detik)
F1	5,91 ± 0,18
F2	12,90 ± 0,53
F3	33,74 ± 1,22

Berdasarkan data pada tabel V menunjukkan bahwa semakin banyak konsentrasi ekstrak dalam formula waktu lekat sediaan juga meningkat. Hal ini selaras juga dengan hasil uji viskositas yang mana semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak krim semakin kental, diameter sebar semakin menurun dan waktu lekatnya semakin lama. Hal ini disebabkan selain adanya kandungan flavonoid ekstrak juga mengandung tannin yang dapat meningkatkan kelengketan ekstrak.

Uji Antibakteri

Pembuatan Stok Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas sediaan yang dibuat. Hasil uji aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol daun salam tersaji pada tabel VI.

Berdasarkan data tabel VI hasil uji antibakteri dapat disimpulkan bahwa sediaan krim ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Krim memiliki nilai diameter zona hambat diatas 11 mm, sehingga

dapat dinyatakan memiliki daya anti bakteri yang kuat.

Hasil uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan dari angka diameter zona hambat terhadap bakteri antara krim ekstrak etanol daun salam, kontrol positif, dan kontrol negatif. Uji statistik ini juga menunjukkan bahwa basis krim tidak memiliki efek antibakteri sedangkan krim ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) baik formula 1, 2 atau 3 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Tabel VI. Hasil ujianti bakteri krim terhadap *Staphylococcus aureus*

Formula	Daya hambat (mm)
F1	13,50 ± 0,5
F2	13,50 ± 1
F3	13,67 ± 0,2
Kontrol +	14,67 ± 0,76
Kontrol -	13,50 ± 0,5

KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) dapat dibuat menjadi krim yang baik dan memiliki efek anti bakteri yang kuat (diameter zona hambat 11-20 mm) terhadap *Staphylococcus aureus* pada semua formula.

DAFTAR PUSTAKA

- Apitalau, E., A., Edy, H., J., & Mansauda, K., R., L., 2021, Formulasi dan Uji Efektivitas Antioksidan Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walpers.) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), *Pharmacon*, 10(1) : 720-729.
- Alvianti, N., Fitri, K., 2018. Formulasi Sediaan krim Anti Jerawat Ekstrak Etanol Daun Kersen

- (*Muntingin calabura L.*). *Jurnal Dunia Farmasi* 3(1), 24-31
- Azkiya, Z., Ariyani, H., & Nugraha, T., S., 2017, Evaluasi Sifat Fisik Krim Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. *rubrum*) Sebagai Anti Nyeri, *Journal of Current Pharmaceutica Sciences*, 1(1) : 12-18.
- Elcistia, R., Zulkarnain, A.K., 2019. Optimasi Formula Sediaan Krim O/W Kombinasi Oksibenzon dan Titanium Dioksida Serta Uji Aktivitas Tabir Surya Secara In Vivo. *Majalah Farmasetik*, 14 (2), 63-78
- Ismail, A., & Ahmad, W., A., N., W., 2019, *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp: A Potential Phytomedicine, *Pharmacogn Journal*, 11(2) : 429-438.
- Lau, K. Y., & Rukayadi, Y., 2015, Screening of Tropical Medicinal Plants For Sporicidal Activity, *International Food Research Journal*, 22(1) : 421-425.
- Nurhayati, L.S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A., 2020, Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram, *Jurnal teknologi Hasil Peternakan*, 1(2) : 41-46.
- Pamuladiman, A., & Widiyastuti, L., 2021. Formulation and the Antibacterial Activity of Mulberry leaves extract Gel (*Morus alba* L.) against *Staphyococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 19(1) : 39-48.
- Prahastuti, S., Tjahjani, S., Hartini, E., 2011, The Effect of Bay Leaf Infusion (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) to Decrease Blood Total Cholesterol Level in Dyslipidemia Model Wistar Rats, *Jurnal Medika Planta*, 1(4) : 27-32.
- Puspita, G., Sugihartini, N., & Wahyuningsih, I., 2020, Formulasi Sediaan Krim A/M Dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Daging Buah Pepaya (*Carica Papaya*) Menggunakan Emulgator Tween 80 dan Span 80, *Media Farmasi*, 16(1) : 33-41.
- Ryan, K.J., J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F.C. Neidhardt, and C.G. Roy, 1994, *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases*. Edisi III, Appleton & Lange, Connecticut: 254.
- Saryanti, D., Setiawan, I., & Safitri, R.A., 2019, Optimasi Formula Sediaan Krim M/A Dari Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* L.), *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(3): 225-237.
- Siahaan, S.P.L., 2013, Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum* Cor.) Terhadap *Salmonella typhi*, *Jurnal Mahasiswa PSPD FK UNTAN*, 1(1).
- Silalahi, M. (2017) "*Syzygium polyanthum*(Wight) Walp.: (Botani, Metabolit Sekunder dan Pemanfaatan)", *Jurnal Dinamika Pendidikan*, 10(1) : 1-16.
- Sumono, A., & Agustin, W., 2008, The Use of Bay Leaf (*Eugenia polyantha* Wight) in dentistry, *Dent Jurnal*, 41(3) : 147-150.

ARTIKEL

KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI METANOL EKSTRAK ETANOL DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb)

TOTAL FLAVONOID CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF METHANOL FRACTION OF GAMBIR LEAF ETHANOL EXTRACT (*Uncaria gambir* Roxb)

Rahayu Mayaringtyas¹, Hari Susanti¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

Gambir is a plant that contains antioxidant compounds called flavonoids. Several studies have shown that flavonoids are compounds that have the ability to defend against free radicals. Therefore, this study is expected to determine the antioxidant activity and total flavonoid content of the methanol fraction of gambir leaves. Extraction was carried out by maceration using 96% ethanol as solvent, followed by fractionation with methanol. Phytochemical screening test using ammonia test and thin layer chromatography showed that the ethyl acetate fraction contained flavonoids in the ethanolic extract. Testing of antioxidant activity was carried out using the DPPH method. Antioxidant activity can be expressed as ES_{50} value and then statistically analyzed using SPSS with 95% confidence level. The results showed that the ES_{50} value of the routine standard was $11.92 \pm 0.46 \mu\text{g/ml}$, and the methanol fraction was $15.25 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$. The total flavonoid content in the methanol fraction was $11.51 \pm 0.05 \% \text{ b/b RE}$. Data analysis using the Mann Whitney nonparametric test showed that the ES_{50} results of the methanol fraction were significantly different with rutin. Both of the sample has strong antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, *Uncaria Gambir* Roxb, DPPH, Gambir

ABSTRAK

Gambir merupakan tanaman yang mengandung senyawa antioksidan yang disebut flavonoid. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavonoid merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk melawan radikal bebas. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid total fraksi metanol dari ekstrak etanol daun gambir. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, dilanjutkan dengan fraksinasi dengan metanol. Uji penapisan fitokimia menggunakan uji amoniak dan kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung flavonoid dalam ekstrak etanolik. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan sebagai nilai ES_{50} (*Effective Scavenging 50*) kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan nilai ES_{50} standar rutin sebesar $11,92 \pm 0,46 \mu\text{g/ml}$ dan fraksi metanol sebesar $15,25 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$. Kandungan flavonoid total dalam fraksi metanol ekstrak etanol adalah sebesar $11,52 \pm 0,05 \% \text{ b/b RE}$. Analisis data menggunakan uji nonparametrik Mann Whitney menunjukkan bahwa hasil ES_{50} ekstrak etanol dan fraksi metanol berbeda nyata, menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik daripada fraksi metanol.

Kata Kunci: Antioksidan, *Uncaria Gambir* Roxb, DPPH, Gambir

PENDAHULUAN

Beberapa penyakit dalam tubuh disebabkan oleh adanya radikal bebas. Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai atom atau gugus dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas juga ada di lingkungan, beberapa logam (misalnya, besi dan tembaga), asap rokok, obat-obatan, makanan kemasan, aditif, dll (Droge, 2002). Untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, zat antioksidan bertindak dengan menstabilkan radikal bebas dengan mengisi kekurangan elektronnya, sehingga mengganggu reaksi berantai (Haliwell and Gutteridge, 1999).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat digunakan untuk melindungi makanan dengan memperlambat kerusakan akibat oksidasi, ketengikan, atau perubahan warna. Antioksidan sering bertindak sebagai donor radikal hidrogen atau dapat bertindak sebagai akseptor radikal, sehingga dapat menunda timbulnya pembentukan radikal bebas. Molyneux, 2004) Tubuh manusia tidak memiliki cadangan antioksidan berlebih, sehingga jika paparan radikal bebas terlalu banyak, tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Clarkson dan Thompson, 2000). Antioksidan eksogen dapat bersumber dari bahan sintetik maupun bahan alami. (Winarsi, 2007)

Salah satu tanaman yang memiliki sifat antioksidan adalah tanaman gambir dengan nama latin *Uncaria gambir* Roxb, tanaman dari famili Rubiaceae. (Anonim, 2019) merupakan tumbuhan perdu yang berasal dari Sumatera dan Kalimantan. Tumbuhan ini tumbuh liar di hutan dan tempat lain pada ketinggian 200-900 meter di atas permukaan laut, yang tanahnya relatif landai, dan mendapat sinar matahari yang cukup. Di Sumatera dan Kalimantan, tanaman gambir umumnya ditanam oleh masyarakat di pekarangan (Mardisiwodjo,

2003). Sebagian besar gambir dapat digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit, antara lain penyakit alergi, penyakit metabolik, kanker, dan penyakit degeneratif yang berhubungan dengan penuaan (Djauhariya dan Hernani, 2014), juga bisa dimanfaatkan sebagai pelindung terhadap UV (Setyowati., 2017), Bahan aktif sediaan antiseptic mulut (Lucida dkk, 2007). Gambir secara tradisional digunakan sebagai suplemen dan obat untuk makan buah pinang, seperti obat maag, obat luka bakar, selain rebusan daun dan pucuknya yang empuk, juga digunakan untuk mengobati diare dan disentri dan sebagai obat kumur. Gambir lebih dikenal di seluruh dunia dengan menggunakan nama gambir, cutch, catechu atau pale catechu. Senyawa utama yang terkandung dalam gambir dapat dijelaskan sebagai 7%-30% pseudomonoamine catechin dan 22%-55% lutein catechin (Utami, 2008). Gambir telah lama digunakan sebagai suplemen mengunyah buah pinang untuk memperkuat gigi. Ekstrak gambir sedikit banyak mengandung katekin yang merupakan penyusun utama suatu senyawa polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri (Lucida., 2007).

Untuk mendapatkan senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi maka perlu dilakukan ekstraksi terhadap daun gambir. Kebanyakan senyawa dalam tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan bersifat semi polar. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa daun gambir memiliki nilai ES_{50} pada ekstrak etanol sebesar $73,5282 \pm 2,0307 \mu\text{g/mL}$, dan fraksi etil asetat sebesar $80,4442 \pm 0,6649 \mu\text{g/mL}$. Kadar senyawa flavonoid total ekstrak etanol sebesar $8,5354 \pm 0,1574 \%$ b/b EK dan fraksi etil asetat sebesar $2,8901 \pm 0,1272 \%$ b/b EAG. (Putri, 20220). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid total dan aktivitas

antioksidan ekstrak etanol dan fraksi methanol daun gambir.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pioneer Analytical Balance (OHAUS), stirrer, *rotary evaporator* (Heidoph), waterbath (Memmert) mikropipet, yellow tip, blue tip, glassware, electric stirrer, Spektrofotometer UV-Vis (Pharmaspec Shimadzu UV-1800). Bahan uji dalam penelitian ini adalah daun gambir yang diperoleh pada bulan Maret, 2021 dari petani di Kebuntinggi, Pekanbaru, Provinsi Riau.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich), kertas saring, n-heksana (Brataco), metanol, etanol industri 96% (Brataco), aquades, etanol p.a. (E Merck), methanol p.a. (E. Merck), rutin p.a. (E. Merck) amonia p.a. (E. Merck).

Determinasi dan Identifikasi Tanaman Gambir

Tanaman Gambir yang digunakan dalam penelitian dilakukan identifikasi dan dideterminasi di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan.

Penyiapan ekstrak dan fraksi

Sebelum dilakukan ekstraksi terlebih dahulu dilakukan pengawaleman dengan cara merendam serbuk daun gambir dengan heksan. Selama 24 jam. Ekstrak etanol diperoleh dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. (Anonym 2017) Ekstrak yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*, dilanjutkan dengan bantuan penangas air. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan metanol dengan cara menambahkan methanol kedalam ekstrak kental

dan diaduk, disonikasi, dan disaring. Bagian yang larut metanol (filtrat) selanjutnya diuapkan pelarutnya hingga diperoleh fraksi kental.

Uji pendahuluan adanya flavonoid

Uji dilakukan dengan meneteskan larutan sampel pada kertas saring. Setelah kering dikenakan uap ammonia. Hasil uji dinyatakan positif jika bercak pada kertas saring berubah menjadi lebih kuning. (Markham, 1999).

Penentuan kandungan Flavonoid total dalam sampel

Uji dilakukan sesuai dengan Sembiring dkk, (2018) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 25 mg fraksi metanol daun gambir dilarutkan dalam etanol p.a. hingga 25 mL. Larutan fraksi yang diperoleh dipipet 2 ml dan ditambah 2 ml $AlCl_3$ 2% kemudian dikocok secara homogen dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 406 nm. Dilakukan 5 kali pengulangan. Sebagai pembanding digunakan larutan rutin. Kadar flavonoid total dinyatakan sebagai mg/g rutin ekivalen (RE) (Selawa, 2013).

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Masing-masing 1,0 ml, fraksi metanol dan larutan pembanding rutin dengan berbagai konsentrasi dikocok kuat dengan 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM. Campuran larutan tersebut disimpan ditempat gelap selama 40 menit. Kemudian absorbansinya diukur pada panjang 516 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai ES_{50} (*effective scavenging*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menangkap radikal bebas DPPH sebanyak 50% (Nurviana, 2015)

Analisis Data

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Pada penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diperoleh data berupa absorbansi sisa DPPH pada berbagai konsentrasi sampel. Selanjutnya dihitung nilai % penangkapan radikal bebas dengan rumus:

$$\% \text{ Penangkapan DPPH} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Selanjutnya ditentukan regresi linear antara konsentrasi sampel dengan nilai % penangkapan sehingga di peroleh persamaan

$$Y = bx + a$$

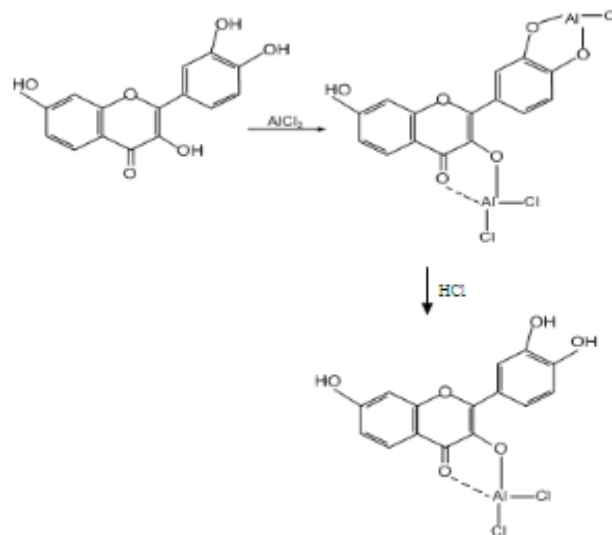
Dimana y adalah % penangkapan, X adalah konsentrasi sampel. Nilai ES_{50} dihitung dengan mensubstitusikan nilai 50 pada y

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa bahan yang digunakan merupakan daun

dari tanaman *Uncaria gambir* Roxb. Hal ini penting untuk menghindari kesalahan dalam mengambil sampel. Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa didalam fraksi metanol mengandung senyawa flavonoid terlihat dari terbentuknya warna kuning intensif setelah perlakuan dengan uap ammonia terhadap kertas saring yang sudah ditetesi sampel.

Penentuan kadar flavonoid total fraksi metanol daun gambir secara spektrofotometri visible berdasarkan adanya pembentukan kompleks antara flavonoid dalam sampel dengan $AlCl_3$ akan mengakibatkan pergeseran gelombang batokromik yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning Ahmad et al., 2015). Fraksi metanol daun gambir mengandung flavonoid total sebesar $11,52 \pm 0,05$ % b/b RE. Reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dengan $AlCl_3$ dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Pembentukan Kompleks antara Flavonoid dengan $AlCl_3$ (Markham, 1988).

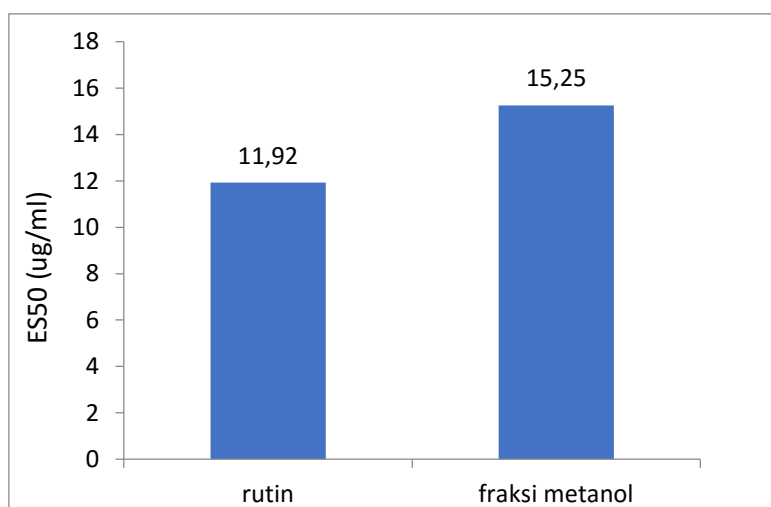
Hasil uji antioksidan menunjukkan bahwa fraksi methanol ekstrak etanol daun gambir memiliki potensi yang lebih rendah dibandingkan

rutin (gambar 2) Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah dan sangat lemah (Blois, 1985 dalam

Molyneux, 2004). Antioksidan dikatakan sangat kuat jika nilai ES_{50} nya kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat memiliki nilai ES_{50} antara 50 ppm dan 100 ppm, antioksidan sedang memiliki nilai ES_{50} antara 100 ppm dan 150 ppm, dan antioksidan lemah. Kisarannya adalah 150 ppm hingga 200 ppm, dan nilai IC_{50} di atas 200 ppm merupakan antioksidan yang sangat lemah. Oleh karena itu, dapat disimpulkan dari data di atas bahwa fraksi metanol dan rutin merupakan antioksidan yang sangat kuat dengan nilai ES_{50} rata-rata masing-masing sebesar $15,25 \pm 0,25$ $\mu\text{g/mL}$ dan $11,92 \pm 0,05$ $\mu\text{g/mL}$. Potensi antioksidan fraksi metanol lebih besar daripada ekstrak metanol dengan ES_{50} sebesar $73,52 \pm 2,03$ $\mu\text{g/mL}$ (Putri, 2020). Hal ini sejalan juga dengan kandungan flavonoid total pada fraksi metanol

yang lebih besar dibanding ekstrak etanol yakni sebesar $8,5354 \pm 0,1574$ % b/b EK. Hanya saja ada perbedaan dalam hal pembandingan yang digunakan.

Aktivitas antioksidan fraksi metanol daun gambir dan rutin dikategorikan sebagai antioksidan kuat sedangkan standar rutin dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan rutin jauh lebih besar dari pada fraksi metanol ekstra daun gambir dikarenakan rutin merupakan senyawa murni sedangkan fraksi metanol merupakan campuran dari beberapa senyawa (Pratiwi, 2013). Antioksidan fraksi metanol lebih kuat dari pada ekstrak etanol (ES_{50} sebesar $73,53$ $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi etil asetat ES_{50} sebesar $80,44$ $\mu\text{g/ml}$) (Putri, 2020).



Gambar 2. Histogram nilai ES_{50} Rutin dan fraksi methanol (n=5)

KESIMPULAN

Fraksi metanol ekstrak etanol daun gambir mengandung senyawa flavonoid. Kadar flavonoid total sebesar $11,52 \pm 0,24\%$ b/b ekuivalen rutin. Fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai ES_{50} sebesar $15,72 \pm 0,25\%$ $\mu\text{g/ml}$ dan standar rutin adalah $11,92 \pm 0,47\%$ $\mu\text{g/ml}$. Potensi antioksidan Fraksi metanol dan rutin tergolong sangat kuat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Biologi FAST UAD atas bantuan determinasi

DAFTAR PUSTAKA

Anggraini, T., Tai, A., Yoshino T., and Itani, T.. 2011, Antioxidative activity and catechin content of four kinds of Uncaria gambir extracts from West Sumatra, Indonesia. *African Journal of*

- Biochemistry Research* Vol. 5 (1), pp. 33-38.
- Anonim, 2017, Farmakope Herbal Indonesia edisi II, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Anonim, 2019, classification for kingdom plantae down to species *Uncaria gambir* Roxb, [USDA https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=UNCAR](https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=UNCAR), diakses 05 Januari 2019
- Djauhariyah dan Hernani. 2014. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Clarkson, P.M., and Thompson, H.S. 2000. Antioxidant : What Role DO They Play in Pysical Activity and Healt. *Am J ClinNutr.* 72 : 637-646.
- Droge,W. 2002 .Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 82: 47-95
- Eva, Marliana., 2007, Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang (*Spatholobus ferrugineus*) (Zoll & Moritzi) Benth yang berfungsi sebagai antioksidan, FMIPA Universitas Mulawarman, *Jurnal Penelitian MIPA*, 1(1).
- Farisyah, N., Trilestari, Subagus, W., dan Abdul, R., 2014, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik berbagai Jenis Sayuran Serta Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Totalnya, *Media Farmasi*, 11(2).
- Halliwell B and Gutteridge JMC., 1999, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd edn. Oxford : Clarendo Press.
- Li, P., Huo, L., W., Lu, R., Deng, C., Liu, L., Deng, Y., Guo, N., Lu, C., and He, C., 2011, Free Radical Scavenging Capacity, Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Pouzolzia zeylanica*, *College of Pharmacy, J. Serb. Chem. Soc.*, 76(5): 709-717.
- Lucida, H.,A. Bakhtiar dan Wina A.P. 2007. Formulasi Sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi* 12 (1).
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB Press, Bandung.
- Mardiswojo, S dan H. Rajakman gunsurdarso. 1968. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang Cetakanke 2*. Jakarta : Depkes RI.
- Molyneux, P, 2004, The use of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar J. Sci. Technol*, 26(2): 211-219
- Nurviana, Vera., 2015, Isolasi, identifikasi, dan analisis struktur senyawa antioksidan pada akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack), *Tesis*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Pokorny, J., Nedyalka, Y., and Michael G., 2001, *Antioxidant in food: Partical Application*. CRC Press, New York, 5-33.
- Putri, M.R, 2020, Penetapan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun gambir (*Uncaria gambir*, Roxb), *Skripsi*, Fakultas farmasi Universitas ahmad Dahlan, Yogyakarta
- Rauf, Rusdin., *et al.* 2010. Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah. *Agritech*, Vol 30, N0. 1.
- Salamah, Nina., dan Widayarsi, Erlinda., 2015, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dain Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, *Jurnal Pharmacia*, 5(1): 25-34.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R. J., dan Citraningtyas, G., 2013, Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong (*Anreindra cordifolia* (Ten.) Steenis.), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(1).
- Sembiring E.N., Elya, B., and Sauriasari, R., 2018, Phytochemical Screening, Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb, *Pharmacogn J.*; 10(1): 123-127
- Setyowati, H., 2017, Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) as Natural Cosmeceutical Agent, *Cermin Dunia Kedokteran*, Vol 44 No 3., p 222-224
- Sultan, Sameena, 2014, Reviewing the Protective Role of Antioxidants in Oxidative Stress Caused by Free Radical, *Asian Pacific Journal Of Health Sciences*, 1(4): 401-406.
- Utami, P., Novi. W., Nina W., Dewi. D., Agung. S., Tinton D. P., Hadi. I., Lukito. A.M., Ug't dan Iwan'S. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*. Jakarta : PT. Agromedia Pustaka
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

ARTIKEL

TINGKAT PENGETAHUAN PENGGUNAAN OBAT ANALGETIK ANTIPIRETIK UNTUK SWAMEDIKASI DI KECAMATAN PANCALANG KABUPATEN KUNINGAN

LEVEL OF KNOWLEDGE OF THE USE OF ANALGETIC ANTIPIRETIC DRUGS FOR SELF-MEDICATION IN PACALANG SUB DISTRICT KUNINGAN DISTRICT

Muhammad Muhlis¹, Isyaura Bellafasya Rohendiputri¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

ABSTRACT

Self-medication according to World Health Organization (WHO) is self-medication efforts carried out independently to protect and treat all disease complaints. Antipyretic analgesic drugs that are commonly used by the community for self-medication include paracetamol, acetosal, mefenamic acid, ibuprofen and methampyron. This research is an analytic observational with a cross sectional design using an online questionnaire. The research sample consisted of 100 questionnaires as participants and filled out online questionnaires. Data analysis from the results of this questionnaire will be carried out with the Chi-Square test. The results showed that the level of public knowledge about the use of antipyretic analgesic drugs for self-medication in Pancalang District, Kuningan Regency was categorized as good with the average percentage value is 78%. There was no significant relationship between gender and knowledge level ($p=0,054>0,05$) and there was no relationship between education level and significant level ($p=0,235>0,05$). The conclusion of this study is that between gender and education level there is no significant relationship to the level of knowledge of the use of antipyretic analgesic drugs for self-medication with the level of knowledge having a good category.

Keywords: antipyretic analgesics, self-medication, Pancalang District

ABSTRAK

Swamedikasi menurut World Health Organization (WHO) yaitu upaya pengobatan sendiri yang dilakukan secara mandiri guna melindungi serta mengobati dari segala keluhan penyakit. Obat analgetik antipiretik yang biasa digunakan oleh masyarakat secara swamedikasi antara lain parasetamol, asetosal, asam mefenamat, ibuprofen dan metampiron. Penelitian ini bersifat observasional analitik dengan desain cross sectional menggunakan kuesioner online. Sampel penelitian sejumlah 100 orang yang bersedia sebagai partisipan dan mengisi kuesioner online. Analisis data dari hasil kuesioner ini akan dilakukan dengan uji Chi-Square. Hasil penelitian menunjukkan tingkat pengetahuan masyarakat tentang penggunaan obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi di Kecamatan Pancalang Kabupaten Kuningan dikategorikan baik dengan rata-rata nilai presentase 78%. Hubungan antara jenis kelamin dengan tingkat pengetahuan tidak terdapat hubungan yang signifikan ($p=0,054>0,05$) dan hubungan antara tingkat Pendidikan dengan tingkat pengetahuan tidak terdapat hubungan yang signifikan ($p=0,235>0,05$). Kesimpulan dari penelitian adalah antara jenis kelamin dengan tingkat Pendidikan tidak terdapat hubungan secara signifikan terhadap tingkat pengetahuan penggunaan obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi dengan tingkat pengetahuan memiliki kategori baik.

Kata kunci: analgetik antipiretik, swamedikasi, Kecamatan Pancalang

PENDAHULUAN

Swamedikasi menurut *World Health Organization* (WHO) yaitu usaha pengobatan sendiri dilakukan secara mandiri guna melindungi serta mengobati dari keluhan berbagai penyakit, baik dengan pengobatan modern atau pengobatan tradisional. Obat modern yang aman dikonsumsi pada swamedikasi yakni golongan obat bebas, obat bebas terbatas serta obat wajib apotek (Halim et al, 2018). Dimana obat analgetik antipiretik dan AINS merupakan golongan obat yang biasa digunakan tanpa menggunakan resep dari dokter (Gunawan dan Wilmana., 2012). Analgetik digunakan untuk mengurangi dan menghilangkan nyeri ringan hingga sedang dan obat antipiretik digunakan untuk menurunkan suhu tubuh pada saat demam (Mita, S.R dan Husni, 2017). Obat analgetik antipiretik yang dapat digunakan untuk swamedikasi seperti: parasetamol, asetosal, ibuprofen, asam mefenamat dan metampiron (PIONAS, 2015).

Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2012, 44,14% masyarakat Indonesia telah mencoba swamedikasi. Dari hasil kajian kesehatan dasar pada 2013 menunjukkan sekitar 103.860 (35,2%) dari 294.959 rumah tangga di Indonesia telah melaksanakan swamedikasi (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

Swamedikasi dapat dilaksanakan secara baik apabila pasien memiliki pengetahuan guna mendukung pengobatan misalnya, dapat melihat *symptom* penyakit secara baik, pilih obat sesuai dengan indikasi serta minum obat sesuai dengan intruksi pemakaian (Purnamasari, 2019). Meskipun demikian, upaya dari swamedikasi terdapat potensi resiko swamedikasi, seperti efek obat yang tidak diharapkan jarang muncul tetapi serius, tidak tepat

dalam dosis, pengobatan dan interaksi obat yang berbahaya (BPOM RI, 2014).

Banyaknya jenis obat yang tersebar pada pasaran memudahkan seorang melakukan swamedikasi. Informasi mengenai *symptom* penyakit mungkin tidak diketahui oleh masyarakat umum. Masyarakat tak jarang menerima informasi obat dari orang lain dan iklan, baik pada media cetak atau media elektronik ini jenis liputan yg paling gampang diingat dan gampang dipahami. Kekurangan dari iklan obat yaitu informasi obat tentang kandungan bahan aktifnya. Oleh karena itu, mengandalkan informasi ini saja tidak memberikan informasi penting untuk memilih jenis obat yang anda butuhkan guna mengobati *symptom* penyakit. Faktor yang berpengaruh untuk pertimbangan pemilihan obat untuk pasien meliputi saran dari apoteker, pengalaman pribadi, informasi dari dokter, dan iklan TV, informasi dari orang lain (Candradewi dan Kristina, 2017).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *non-eksperimental* dengan rancangan penelitian secara *observasional analitik* dengan desain *cross sectional*. Pengambilan sampel menggunakan teknik *accidental sampling*. Data diambil dengan cara menyebarkan kuesioner *online*.

Alat dan Bahan

Alat pada penelitian ini yaitu kuesioner *online* menggunakan *google form* yang disebarakan melalui media *WhatsApp*. Bahan pada penelitian ini menggunakan data yang dikumpulkan langsung dari masyarakat dengan mengisi kuesioner *online*.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dimulai dari validasi kuesioner, selanjutnya menentukan sampel dan meminta kesediaan responden, mengumpulkan nomer handphone responden, selanjutnya responden dihubungi dengan menggunakan aplikasi *WhatsApp* untuk mengirimkan *google form*, hasil data selanjutnya dianalisis

Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu analisis univariat digunakan guna melihat presentase tingkat pengetahuan responden tentang penggunaan obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi. Sedangkan analisis bivariat Analisis bivariat dilakukan untuk mengetahui hubungan antara karakteristik demografi masyarakat (tingkat pendidikan dan jenis kelamin) terhadap tingkat pengetahuan penggunaan obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi di Kecamatan Pancalang Kabupaten Kuningan. Analisis bivariat dilakukan menggunakan

uji *Chi-Square* dengan syarat apabila $p\ value < 0,05$ telah terpenuhi maka, terdapat hubungan antara variabel yang diteliti.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Demografi

Hasil karakteristik demografi responden pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel I. Pada Tabel I. menunjukkan bahwa karakteristik demografi responden pada penelitian ini berdasarkan usia menunjukkan, mayoritas responden berusia 18 sampai 30 tahun sebesar 70 responden (70%), berdasarkan jenis kelamin dalam penelitian ini memperlihatkan bahwa mayoritas yang ikut pada penelitian ini yaitu berjenis kelamin perempuan sebanyak 71 responden (71%), berdasarkan pendidikan terakhir pada penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat pendidikan terakhir responden yang paling banyak yakni SMA/Sederajat sebanyak 51 responden (51%).

Tabel I. Distribusi Karakteristik Demografi

Karakteristik Demografi Responden	Frekuensi (n=100)	Presentase
Usia		
18 - 30 tahun	70	70
31 - 40 tahun	8	8
41 - 50 tahun	15	15
51 - 60 tahun	7	7
Jenis Kelamin		
Perempuan	71	71
Laki-laki	29	29
Pendidikan Terakhir		
SD	0	0
SMP	6	6
SMA/Sederajat	51	51
Perguruan Tinggi	43	43

Pengetahuan Swamedikasi Obat Analgetik Antipiretik

Tingkat pengetahuan tentang obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi dapat dilihat pada Tabel II. Pada Tabel II. berdasarkan penelitian ini sebanyak 56 responden (56%) pernah mendengar istilah swamedikasi dan 44 responden (44%) tidak pernah mendengar istilah swamedikasi. Penelitian sejalan dengan yang dilakukan oleh Aswad dkk, 2019, menunjukkan 46 % responden belum mengetahui apa yang dimaksudkan dengan swamedikasi. Mayoritas masyarakat lebih memilih obat parasetamol sebagai pilihan terapi obat

analgetik antipiretik untuk swamedikasi sebanyak 87 responden (87%), penelitian lain menunjukkan 83,9 % responden lebih memilih parasetamol sebagai obat analgesik (Sipahutar dkk, 2021). Tempat memperoleh obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa sebanyak 95 responden (95%) memperoleh obat dari Apotek, pada penelitian lain menunjukkan 50,8 % responden memperoleh dari Apotek (Sipahutar dkk, 2021). Penelitian Sukma dkk (2020) menunjukkan 43 responden memilih membeli diapotek dan 57 % memilih membeli di toko obat.

Tabel II. Pengetahuan Swamedikasi Obat Analgetik Antipiretik

No.	Pertanyaan	Jawaban	Jawaban (n=100)	
			Frekuensi Jawaban	Presentase Jawaban
1.	Apakah anda pernah mendengar istilah dari swamedikasi?	Pernah	56	56
		Tidak Pernah	44	44
2.	Jenis obat analgetik antipiretik apa yang sering digunakan?	Paracetamol	87	87
		Asam Mefenamat	13	13
3.	Di manakah Anda memperoleh obat analgetik antipiretik tersebut?	Apotek	95	95
		Warung	4	4
		Swalayan	1	1

Pengetahuan Penggunaan Obat Analgetik Antipiretik untuk Swamedikasi. Adapun distribusi jawaban yang diperoleh dari responden dapat dilihat pada Tabel III. Berdasarkan jawaban seluruh responden dapat disimpulkan bahwa urutan presentase jawaban dari responden adalah pemilihan obat sesuai penyakit (82,56), cara memperoleh obat (65%), bentuk sediaan obat

(91%), aturan pakai obat (16%), kontraindikasi obat (58%), Indikasi obat (93%), efek samping obat (91%), cara penyimpanan obat (65,5%) dan cara pembuangan obat (83%). Dari hasil ini menunjukkan bahwa perlu dilakukan penyuluhan obat untuk meningkatkan pengetahuan tentang penggunaan obat (Mita, S. R., Husni, P., 2017).

Tabel III. Pengetahuan Penggunaan Obat Analgetik Antipiretik

No	Pernyataan	Jawaban = (n=100)	
		Jawaban Benar	Jawaban Salah
1.	Obat analgetik antipiretik merupakan obat yang digunakan untuk meredakan rasa nyeri kepala, nyeri haid, pegal linu sekaligus menurunkan demam.	97%	3%
2.	Obat analgetik antipiretik digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri.	57%	43%
3.	Obat parasetamol merupakan obat untuk mengobati diare.	85%	15%
4.	Obat asam mefenamat merupakan obat untuk mengobati sakit gigi.	91%	9%
5.	Asam mefenamat dapat dibeli bebas di warung.	65%	35%
6.	Sediaan obat analgetik antipiretik dapat berupa tablet dan sirup.	91%	9%
7.	Obat analgetik antipiretik tidak boleh diminum bersamaan dengan susu.	17%	83%
8.	Jika aturan pakai obat analgetik antipiretik dikonsumsi 3 x sehari maka obat diminum pada pagi, siang dan sore hari.	15%	85%
9.	Obat parasetamol merupakan obat yang kontraindikasi pada penderita dengan gangguan fungsi hati.	58%	42%
10.	Obat analgetik antipiretik diminum setelah ada gejala nyeri dan demam.	93%	7%
11.	Jika telah mengkonsumsi obat analgetik antipiretik secara swamedikasi keluhan penyakit yang dirasa membaik.	93%	7%
12.	Obat analgetik antipiretik memiliki efek samping jika digunakan tidak sesuai dengan aturan pakai.	91%	9%
13.	Obat analgetik antipiretik disimpan di tempat yang kering, sejuk dan terhindar dari sinar matahari langsung.	93%	7%
14.	Obat parasetamol sirup dapat disimpan di dalam lemari pendingin (kulkas).	38%	62%
15.	Jika obat tablet parasetamol mengalami perubahan warna, bentuk, dan bau maka obat di hancurkan kemudian dikubur/ campur dengan tanah.	83%	17%

Tabel IV. Hasil Kategori Tingkat Pengetahuan Responden

Pengetahuan	Frekuensi (n=100)	Persentase
Baik	58	58%
Cukup	36	36%
Kurang	6	6%
Total	100	100%

Analisis Univariat

Berdasarkan hasil dari kategori tingkat pengetahuan responden terkait penggunaan obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi di Kecamatan Pancalang Kabupaten Kuningan dapat dilihat pada Tabel IV.

Pada Tabel IV. Dapat dilihat bahwa sebanyak 58 responden (58%) memiliki pengetahuan yang "Baik". Sebanyak 36 responden (36%) memiliki pengetahuan "Cukup". Sebanyak 6 responden (6%) memiliki pengetahuan "Kurang". Berdasarkan hasil tersebut, diperoleh rata-rata presentase tingkat pengetahuan penggunaan obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi di Kecamatan Pancalang Kabupaten Kuningan didapatkan nilai presentase sebesar 78% dimana pada penelitian ini, masyarakat di Kecamatan

Pancalang Kabupaten Kuningan memiliki kategori pengetahuan yang "Baik".

Analisis Bivariat

Pada Tabel V. dibawah ini, menunjukkan bahwa hasil uji *Chi-Square* antara faktor demografi dengan tingkat pengetahuan, dimana pada faktor jenis kelamin dengan tingkat pengetahuan pada penelitian ini didapat (nilai $p=0,054 > 0,05$) maka penelitian ini tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jenis kelamin dengan tingkat pengetahuan. Sedangkan pada faktor pendidikan terakhir dengan tingkat pengetahuan, dimana pada hasil penelitian ini didapat (nilai $p=0,235 > 0,05$) sehingga dapat dikatakan bahwa pada penelitian ini tidak terdapat hubungan yang signifikan antara Pendidikan terakhir dengan tingkat pengetahuan.

Tabel V. Hasil Uji *Chi-Square* antara Faktor Demografi dengan Tingkat Pengetahuan

Kategori	Jumlah (n=100)				P Value
	Baik		Kurang		
	Jumlah	%	Jumlah	%	
Jenis Kelamin					
Perempuan	46	79,3	25	59,5	0,054
Laki-laki	12	20,7	17	40,5	
Pendidikan Terakhir					
Menengah atas	56	96,6	38	90,5	0,235
Menengah bawah	2	3,4	4	9,5	

KESIMPULAN

Tingkat pengetahuan penggunaan obat analgetik antipiretik untuk swamedikasi pada masyarakat di Kecamatan Pancalang Kabupaten Kuningan memiliki tingkat pengetahuan termasuk kedalam kategori baik dengan nilai presentase sebesar 78%. Berdasarkan hasil uji *Chi-Square*, diperoleh hasil yaitu tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jenis kelamin dengan tingkat pengetahuan (nilai $p=0,054 > 0,05$) dan tidak

terdapat hubungan yang signifikan antara Pendidikan terkahir dengan tingkat pengetahuan (nilai $p=0,235 > 0,05$).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada masyarakat kabupaten Kuningan yang telah bersedia membanti kami menjadi responden penelitian, juga teman lainnya yang sudah membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Aswad, P. A., Kharisma, Y., Andriane, Y., Respati, T., & Nurhayati, E. (2019). Pengetahuan dan perilaku swamedikasi oleh ibu-ibu di Kelurahan Tamansari Kota Bandung. *Jurnal Integrasi Kesehatan dan Sains*, 1(2), 107-113.
- BPOM. (2014). Informatarium Badan Pemeriksa Obat dan Makanan: Badan Pengawas Obat dan Makanan. Edisi 20, 6-9,34,38.
- BPOM. (2014). *Menuju swamedikasi yang aman*. InfoPom.15(1):3-11
- Candradewi, S.F., Kristina, S.A. (2017). Gambaran pelaksanaan swamedikasi dan pendapat konsumen apotek mengenai konseling obat tanpa resep di wilayah Bantul. *Pharmaciana*. 7(1):42.
- Gunawan, S. G., Wilmana, P. F. (2012). *Analgesik-antipiretik, Analgesik Antiinflamasi Nonsteroid, dan Obat Gangguan Sendi Lainnya*. Dalam: S. G. Gunawan, penyunt. Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indoneisa, pp. 230-237.
- Halim, S.V., Prayitno, A.A., dan Wibowo, Y.I. (2018). Profil Swamedikasi Analgesik di Masyarakat Surabaya, Jawa Timur. *Jurnal Ilmu Kefarmasaan Indonesia*, 16 (1).
- Mita, S. R., Husni, P., (2017). Pemberian Pemahaman Mengenai Penggunaan Obat Analgesik Secara Rasional Pada Masyarakat Di Arjasari Kabupaten Bandung. Dharmakarya. *Jurnal Aplikasi Ipteks untuk Masyarakat*. Vol. 6, No. 3, hal 193 – 195.
- PIONAS. (2015). *Analgetik*. BPOM RI. Diakses tanggal 21 September 2021.
- Purnamasari, D. S. F. L. (2019). ‘Studi Gambaran Swamedikasi Obat Tradisional pada Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Bandung’, *Jurnal Prosiding Farmasi*, 5, pp. 764-772.
- Sipahutar, L. R. B., Ompusunggu, H. E. S., & Napitupulu, R. R. J. (2021). Gambaran Penggunaan Obat Analgetik secara Rasional dalam Swamedikasi pada Masyarakat PKS Balam, Desa Balai Jaya Km. 31 Kecamatan Balam Sempurna, Kabupaten Rokan Hilir, Riau. *Nommensen Journal of Medicine*, 6(2), 53-57.
- Sukma, N. S., Cahyani, D. M., Revi, Y. T. S., Febiany, E. C., Alifiyah, F., Hariawan, B. S., ... & Mufarrihah, M. (2020). Pemilihan Analgesik Eksternal Untuk Mengatasi Nyeri Otot Pada Kuli Angkut Pusat Grosir Surabaya. *Jurnal Farmasi Komunitas*, 7(1), 23-3

ARTIKEL

AKTIVITAS SIRUP IMUNOMODULATOR "X" MEREDAM RADIKAL BEBAS 2,2'-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL

ACTIVITY OF "X" IMMUNOMODULATOR SYRUP ON 2,2'-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL RADICAL SCAVENGING ACTIVITY

Ichwan Ridwan Rais^{1*}, Andhika Septiawan¹, Meta Ayuni¹, Dhega Agung Wichaksono¹, Akrom^{1*}
Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

Oxidation is a transfers electron reaction from one substance to the oxidizing agent and resulting a product of free radicals. This process triggers a chain reaction that can damage cells. An antioxidant is a chemical substance which able to prevents the oxidation process. This present study aims to provide information about antioxidant activity from one immunomodulator herbal product sample which the identity was concealed. Antioxidants methods performed were radical scavenging activity by using the DPPH method. As the results, sample were performed the DPPH radical scavenging with IC₅₀ of 9.75 mg/mL. This value was indicated as no activity on antioxidant (IC₅₀ > 500 µg/mL).

Keywords: Antioxidant, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Immunomodulator syrup

ABSTRAK

Oksidasi adalah proses reaksi perpindahan elektron dari suatu substansi ke senyawa pengoksidasi dan menghasilkan radikal bebas. Proses ini dapat memicu terjadinya kerusakan sel. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi. Sistem imun juga sangat rentan terhadap proses oksidasi terutama radikal bebas yang tidak terkontrol. Penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan satu sampel produk jadi sirup herbal imunomodulator yang identitasnya dirahasiakan. Metode antioksidan yang dilakukan adalah peredaman radikal bebas 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Hasil pengujian antioksidan sampel menggunakan metode DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ 9,75 mg/mL. Nilai ini mengindikasikan bahwa sampel masuk dalam kategori tidak aktif antioksidan (IC₅₀ > 500 µg/mL).

Kata kunci: Antioksidan, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Sirup imunomodulator

PENDAHULUAN

Oksidasi melibatkan keseimbangan pembentukan radikal bebas dengan kinerja antioksidan alami dalam tubuh. Radikal bebas banyak dihasilkan dari polusi udara, sisa pembakaran, rokok yang dapat meningkatkan konsentrasi pemejanan ke dalam tubuh (Kothari *et al.*, 2010). Proses ini dapat menimbulkan kerusakan sel dan mengganggu sistem imunitas

(Barcelos *et al.*, 2017). Antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase (SOD)*, *glutathione peroxidase*, *glutathione (GSH)* secara alami dapat menangkal radikal bebas, akan tetapi biasanya konsentrasi antioksidan endogen ini rendah sehingga tubuh membutuhkan asupan antioksidan eksogen dari makanan atau suplemen (Szuroczki, *et al.*, 2016). Antioksidan terlibat dalam proses peningkatan imunitas tubuh (Knight, 2000). Komponen utama sel imun adalah asam lemak tak

jenuh rantai panjang (*PUFAs / polyunsaturated fatty acids*) yang sangat sensitif terhadap radikal bebas. Antioksidan dapat melindungi sel imun dari kerusakan oksidatif dan menjaga integritas dan fungsi membrane lipid, asam nukleat dan protein selular (Aslani and Ghobadi, 2016). Vitamin yang memiliki aktivitas antioksidan kuat juga berkaitan dengan system imunitas seperti vitamin C dan vitamin E (Szuroczi, *et al.*, 2016). Berdasarkan keterkaitan ini, produk jadi sirup imunomodulator diduga memiliki aktivitas antioksidan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel adalah produk jadi sirup yang diklaim sebagai imunomodulator dengan identitas dan komposisi kandungan sirup yang tidak diketahui, standar quersetin (Sigma), metanol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), lempeng KLT F254. Alat yang digunakan antara lain *vacuum freeze dryer Virtis 4K (Benchtop®)*, spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu 1800®*), alat gelas yang lazim digunakan (*Pyrex®*).

Preparasi sampel

Sampel produk jadi sirup imunomodulator merk "X" dikeringkan menggunakan *vacuum freeze dryer* pada suhu -40 °C. Hasil pengeringan disimpan dalam suhu dingin di lemari es dan siap untuk digunakan dalam proses pengujian.

Uji peredaman molekul radikal DPPH

Pengujian metode peredaman molekul radikal DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari sampel. Metode uji sesuai penelitian sebelumnya (Rais *et al.*, 2022) dengan modifikasi. Larutan induk standar

quersetin dengan konsentrasi 1 mg/mL dibuat dengan melarutkan 10 mg quersetin ke dalam 10 mL metanol. Seri larutan standar dengan konsentrasi 10, 11, 12, 13 dan 14 µg/mL dibuat dari larutan induk untuk memperoleh data kurva kalibrasi. Larutan sampel dari sirup imunomodulator dibuat dengan menimbang 1 g sampel dan dilarutkan ke dalam metanol, disaring lalu disempurnakan volume sampai 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100 mg/mL. Seri larutan sampel dengan konsentrasi 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 mg/mL diencerkan dari larutan induk sampel dalam metanol. Seluruh larutan standar dan sampel dicampur dengan larutan DPPH 0,1 mg/mL pada perbandingan 1:1 secara terpisah. Setiap campuran larutan digojog dan di inkubasi dengan bebas cahaya selama 30 menit.

Analisis Data

Aktivitas peredaman radikal DPPH dihitung menggunakan rumus:

$$DPPH \text{ scavenging activity } (\%) = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100$$

Dimana A_0 adalah absorbansi larutan DPPH dan A_1 adalah absorbansi larutan standar atau sampel dengan DPPH. Regresi linier kurva baku ditentukan berdasarkan seri konsentrasi standar quersetin *versus* persen peredaman radikal DPPH, dan nilai IC_{50} sampel ditentukan berdasarkan seri konsentrasi sampel *versus* persen peredaman radikal DPPH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian kali ini akan membuktikan aktivitas antioksidan sampel sirup yang diklaim memiliki indikasi sebagai imunomodulator. Sampel tidak diketahui komposisi kandungannya dan diberi kode "X". Sistem imunitas berkaitan erat dengan aktivitas antioksidan (Knight, 2000) melalui mekanisme aksi antioksidan endogen yang

sering kali tidak mencukupi, sehingga membutuhkan antioksidan eksogen (Szuroczki, *et al.*, 2016) yang dapat diperoleh dari asupan makanan, vitamin atau suplemen herbal. Oleh karena itu, produk jadi imunomodulator umumnya mengandung komposisi herbal yang juga memiliki aktivitas antioksidan seperti jinten (*Cuminum cyminum*), katuk (*Sauropus androgunus*) dan mengkudu (*Morinda citrifolia*) (Walid dan Izzati, 2021).

Sampel produk jadi sirup imunomodulator dipisahkan fase airnya menggunakan *vacuum freeze dryer Virtis 4K (Benchtop®)*. Proses pengeringan ini dilakukan untuk mendapatkan sampel dengan konsistensi kering dan konsentrasi yang lebih tinggi dalam satuan berat tertentu. Konsistensi kering sampel akan memudahkan proses pembuatan larutan uji sampel yang akan diukur parameternya terutama bila menggunakan pelarut selain air. Konsentrasi yang lebih tinggi dalam setiap satuan berat tertentu akan memudahkan dalam pengukuran uji aktivitas dengan melampaui batas deteksi standar pengukuran instrument yang digunakan. Persentase rendemen sampel yang diperoleh sebesar 67,57 % (b/b). Hasil persentase rendemen mengindikasikan komponen sirup sebagian besar adalah bahan aktif yang didukung oleh konsistensi sirup sebelum pengeringan berupa larutan kental yang masih mudah dituang.

Uji aktivitas antioksidan sampel dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas *2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode ini sangat umum digunakan untuk mengetahui dan mengukur potensi dan kekuatan daya antioksidan suatu sampel. Suatu senyawa antioksidan akan memberikan elektron hydrogen kepada DPPH dan akan membentuk senyawa DPPH-H (1-diphenyl-2-picrylhydrazine) yang dapat menunjukkan warna kuning intensif (Sukweenadhi *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil pengujian, kurva kalibrasi standar quersetin menghasilkan persamaan regresi linier $Y = 4,521x+8,159$ dengan nilai $r^2 = 0,999$. Hubungan linearitas kedua sumbu semakin ideal bila angka yang diperoleh semakin mendekati angka 1 (Kartikarini *et al.*, 2011). Nilai IC_{50} standar quersetin sebesar 9,227 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan kriteria aktivitas antioksidan dengan kemampuan meredam radikal bebas DPPH, quersetin termasuk dalam kategori sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$) (Molyneux, 2004) dan sejalan dengan hasil penelitian yang lain (Rais, *et al.*, 2022; Rusmana *et al.*, 2017). Hasil pengujian aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dari sampel sirup imunomodulator memiliki nilai $IC_{50} = 9.752,188 \pm 143,415 \mu\text{g/mL}$ seperti terlihat dalam Tabel 1. Nilai IC_{50} sampel termasuk kategori tidak memiliki aktivitas antioksidan ($IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$) (Molyneux, 2004).

Tabel 1. Nilai kuantitatif peredaman radikal bebas DPPH oleh sampel

IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	IC ₅₀ Sampel Sirup				
	Persen penangkapan radikal bebas DPPH (%)				
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4	Replikasi 5
	9.905,571	9.814,341	9.593,313	9.721,879	9.726,406
Rerata \pm LE ($\mu\text{g/mL}$)	9.752,188 \pm 143,415				

Catatan: $IC_{50} = 50\%$ konsentrasi peredaman; regresi linier $Y = 4,521x+8,159$ dan $r^2 = 0,999$.

Sebagaimana penjelasan diatas, sampel sirup imunomodulator biasanya mengandung komposisi herbal antioksidan seperti katuk, jinten dan mengkudu. Lebih jauh, proses preparasi sampel menggunakan metode *vacuum freeze dryer* dapat membuat konsentrasi yang lebih tinggi dalam setiap satuan berat tertentu dari sampel dan akan memudahkan dalam pengukuran uji aktivitas dengan melampaui batas deteksi standar pengukuran instrument yang digunakan. Namun, hasil pengujian menunjukkan hal sebaliknya, yaitu tidak memiliki aktivitas antioksidan karena nilai IC_{50} yang lebih besar dari 500 $\mu\text{g/mL}$. Hipotesis yang dapat dijelaskan disini adalah komposisi kandungan kimia tanaman sebagai bahan baku produk jadi sirup imunomodulator dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal lingkungan seperti tempat tumbuh, kondisi tanah, ketinggian dan kelembapan (Alfian dan Susanti, 2012). Selain bahan baku, proses yang terjadi selama produksi juga dapat mempengaruhi komponen bahan aktif seperti metode ekstraksi atau adanya pemanasan (Rais, 2016; Krismawulan, 2010). Faktor lain adalah komposisi bahan aktif sirup yang dikurangi persentasenya untuk mengurangi rasa tidak enak yang biasanya ditimbulkan dari herbal sebagai bahan aktif sirup imunomodulator, karena semakin besar komposisi bahan aktif akan semakin menimbulkan rasa tidak enak atau pahit (Sari *et al.*, 2016). Pembuktian terbaik potensi simplisia dengan senyawa aktif antioksidan yang diformulasikan dalam suatu produk herbal imunomodulator adalah dengan menemukan aktivitas antioksidannya sebagai produk dalam penelitian lebih lanjut.

KESIMPULAN

Hasil pengujian antioksidan sampel produk jadi sirup imunomodulator menggunakan

metode DPPH menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 9.752,188 $\mu\text{g/mL}$. Nilai ini mengindikasikan bahwa sampel termasuk dalam kategori tidak memiliki aktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih atas dukungan dana dari program Matching Fund UAD-UMY-UNIMUDA Tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R., dan Susanti, H., 2012. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian.*, 2(1):73-80.
- Aslani, B.A., and Ghobadi, S. 2016. Studies on Oxidants and Antioxidants with a Brief Glance at Their Relevance to the Immune System. *Life Sci.* 146:163-73.
- Barcelos, R.P., Royes, L.F.F., Gallego, J.G., and Bresciani, G., 2017. Oxidative Stress and Inflammation: Liver Responses and Adaptation to Acute and Regular Exercise, *Free Radic Res.*, 51(2):222-236.
- Kartikarini, V.D., Sampurno, Wahyono, D., 2011. Pengaruh Kualitas Produk dan Bauran Promosi R” PT Air mancur Terhadap Keputusan Pembelian Konsumen di Kota Surakarta. *Jurnal manajemen dan Pelayanan Farmasi*, 1(1):56-61.
- Knight, J.A. 2000. Review: Free Radicals, Antioxidants, and the Immune System. *Ann Clin Lab Sci.* 30(2):145-58.
- Kothari, S., Thompson, A., Agarwal, A., & Plessis, S. S. (2010). *Free radicals : Their beneficial and detrimental effects on sperm function.* 48(May), 425–435.
- Krismawulan, 2010. Pengaruh Tahapan Pencucian, Pengerangan, dan Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domesticae* Val.) Terhadap Jumlah Cemarkan Kapang/Khamir. *Skripsi.* Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. 50(June 2003).
- Rais, I. R., 2016. Antioxidant Activity of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness Extract Depends on Two Evaporation Difference. *Pharmaciana.* 6(1):95–100.
- Rais, I.R., Septiawan, A., Ayuni, M., Wichaksono, D.A., and Sulistyani, N. 2022. The Antioxidant

- Activity of Several Antidiabetic Herbal Products. *Pharmaciana*. 12(2):253-262.
- Rusmana, D., Wahyudianingsih, R., Elisabeth, M., Balqis, Maesaroh, and Widowati, W., 2017. Antioxidant Activity of *Phyllanthus niruri* Extract, Rutin and Quercetin. *The Indo Biomed J*. 9(2):84-90.
- Sari, Y.W., Mustofa, A., dan Kurniawati, L., 2016. Karakteristik Sirup Herbal Fungsional "SIJALA" (Sirih Merah-Jahe-Rosella) Sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 1(2):79-87.
- Sukweenadhi, J., Yunita, O., Setiawan, F., Siagian, M. T., Danduru, A. P., & Avanti, C. (2020). Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract. 21(5), 2062–2067.
- Szuroczki, D., Koprivnikar, J., and Baker, R.L. 2016. Dietary Antioxidants Enhance Immunocompetence in Larval Amphibians. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 201:182-188.
- Walid, M., and Izzati, L., 2021. Imunomodulator dari Herbal. *Jurnal Abdimas*. Vol.2-2021 Edisi Khusus Dies Natais Unikal ke-40.

ARTIKEL

OPTIMASI FORMULA GEL EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban) DENGAN KOMBINASI *GELLING AGENT* KARBOPOL 940 DAN HPMC MENGGUNAKAN METODE *FACTORIAL DESIGN*

OPTIMIZATION OF GOTU KOLA LEAVES (*Centella asiatica* (L.) Urban) EXTRACT GEL FORMULA WITH COMBINATION OF CARBOPOL 940 AND HPMC AS *GELLING AGENT* USING *FACTORIAL DESIGN* METHOD

Bethari Rudhinindya Yoscar¹, Citra Ariani Edityaningrum^{1*}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

Extract of *Centella asiatica* leaves has been proven to be used as anti-inflammatory and anti-bacterial agents. To improve the practicality of its use, extract of *Centella asiatica* leaves can be made in a gel dosage form using combination of carbopol 940 and hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). The purpose of this study was to find out the effect of the combination of gelling agents on the physical properties gel and determine the optimum composition of the combination of gelling agents that meets the requirements of good gel physical properties. The concentration optimization of gelling agents was carried out using the Factorial Design method with Design Expert software version 11.0. The physical parameters observed were pH, spreadability, adhesion, and viscosity. Then leverage is performed by comparing the predicted results with the actual results using a sample t-test analysis with 95% confidence. The results obtained from the combination variation of gelling agents on the physical properties of the gel can increase pH, adhesion, viscosity and reduce the spreadability of *Centella asiatica* leaves gel. The optimum formula was obtained from the combination of carbopol and HPMC of 0.525%: 6.923% with pH value 6.00 ± 0.041 , viscosity 3824.761 ± 271.867 cps, spreadability 23.264 ± 0.255 gr.cm/second, and adhesion 10.257 ± 0.196 seconds. Based on a sample t-test analysis, all parameters have a significance value > 0.05 , indicating that there is no significant difference between the predicted and actual results so that the prediction results are valid to be used as the optimal formula.

Keywords: *Centella asiatica* extract, HPMC, Carbopol 940, Factorial Design

ABSTRAK

Ekstrak daun pegagan telah terbukti bermanfaat sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Untuk memudahkan dalam penggunaannya, ekstrak tersebut dapat dibuat dalam bentuk sediaan gel menggunakan kombinasi *gelling agent* karbopol 940 dan hidroksiopropil metilselulosa (HPMC). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi kombinasi *gelling agent* terhadap sifat fisik sediaan gel serta mengetahui komposisi optimum kombinasi *gelling agent* yang memenuhi persyaratan sifat fisik gel yang baik. Optimasi komposisi *gelling agent* dilakukan menggunakan metode desain faktorial dengan *software Design Expert* versi 11.0. Parameter fisik yang diamati yaitu pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat. Kemudian dilakukan verifikasi dengan membandingkan hasil prediksi dengan hasil aktual menggunakan *one sample t-test* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil yang diperoleh dari variasi kombinasi konsentrasi *gelling agent* terhadap sifat fisik gel yaitu dapat meningkatkan pH, viskositas, daya lekat, serta menurunkan daya sebar sediaan gel ekstrak daun pegagan. Formula optimum diperoleh dari kombinasi karbopol dan HPMC sebesar 0,525%: 6,923% menghasilkan pH $6,00 \pm 0,041$, viskositas $3824,761 \pm 271,867$ cps, daya sebar $23,264 \pm 0,255$ gr.cm/detik, dan daya lekat $10,257 \pm 0,196$ detik. Berdasarkan analisis *one sample t-test* dihasilkan semua parameter memiliki nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara hasil prediksi dengan aktual sehingga hasil prediksi valid untuk digunakan sebagai formula optimal.

Kata kunci: Ekstrak pegagan, HPMC, Karbopol 940, Desain Faktorial

PENDAHULUAN

Sekitar 64,3% remaja yang berusia di antara 15-24 tahun memiliki permasalahan kulit jerawat (Ayudianti dan Indramaya, 2014). Kulit berjerawat sering menjadikan pribadi yang tidak percaya diri, sehingga terdapat beberapa cara untuk menangani dan merawat kulit berjerawat. Ekstrak etanol daun pegagan terbukti mengandung asiaticosida yang memiliki aktivitas anti-inflamasi dan anti-bakteri. Asiaticosida bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin yang akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang menyebabkan sel bakteri mengalami kematian (Arlofa, 2015). Berdasarkan penelitian Nurrosyidah dkk. (2019), ekstrak etanol daun pegagan pada konsentrasi 5% memiliki zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 25 mm dan menurut penelitian Soebagio dkk. (2020), ekstrak etanol daun pegagan pada konsentrasi 20% memiliki luas zona hambat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang nilainya sama dengan klindamisin yaitu sebesar 6,0755 cm². Ekstrak daun pegagan dapat meningkatkan penyembuhan inflamasi akibat jerawat dengan memperbaiki jaringan kulit (Kuo dkk., 2020).

Untuk meningkatkan kepraktisan dalam penggunaan ekstrak daun pegagan sebagai obat anti-jerawat, ekstrak tersebut diformulasikan dalam sediaan gel. Adapun keuntungan dari penggunaan gel yaitu nyaman ketika digunakan karena mudah merata saat dioleskan, memberikan sensasi dingin, dan menimbulkan bekas yang transparan di kulit (Anggraeni dkk., 2012). Sediaan gel dapat menghantarkan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pegagan yaitu asiaticosida untuk mengurangi permeabilitas

sel bakteri yang berhabitat pada permukaan kulit. Sediaan gel dipilih karena asiaticosida yang memiliki nilai koefisien partisi sebesar 0,908 terbukti dapat lepas dengan baik dari sediaan gel menuju kulit berdasarkan penelitian Surini dkk. (2018) menggunakan sel difusi Franz sebesar 540,21±12,28 µg/cm². Kelebihan gel dibandingkan sediaan krim yaitu lebih mudah dibersihkan setelah pemakaiannya, mampu memperlambat proses pengeringan kulit, dan tidak mengandung minyak sehingga tidak meningkatkan keparahan jerawat (Fissy dkk., 2014; Pricillya dkk., 2019).

Pada pembuatan gel, *gelling agent* merupakan salah satu komponen yang paling mempengaruhi sifat fisik gel. Formula gel pada penelitian ini menggunakan kombinasi *gelling agent* karbopol 940 dan HPMC. Dibandingkan dengan *gelling agent* yang lain, karbopol 940 lebih mudah untuk terdispersi oleh air, memiliki kekentalan yang cukup pada konsentrasi 0,5-2,0% dan memiliki pH yang asam yaitu 2,5-4,0 (Rowe dkk., 2009). Menurut penelitian Saryanti dkk. (2019), dengan seiringnya peningkatan konsentrasi karbopol 940, sediaan gel yang terbentuk akan semakin asam, maka dari itu basis gel dikombinasikan dengan HPMC yang memiliki pH sebesar 5,0-8,0 agar sediaan gel yang terbentuk tidak terlalu asam sehingga sesuai dengan pH kulit yaitu antara 4,5-6,5 (Shu, 2013). Menurut penelitian Sulaiman dan Tambunan (2018), penggunaan kombinasi karbopol 940 dan HPMC dapat meningkatkan viskositas gel dibandingkan penggunaan tunggal. Peningkatan viskositas tersebut baik untuk gel anti-jerawat agar gel memiliki daya lekat yang baik pada titik-titik lokasi jerawat.

Optimasi kombinasi karbopol 940 dan HPMC dilakukan untuk mengetahui perbandingan optimum komposisi *gelling agent* yang menghasilkan sifat fisik gel yang baik berupa pH,

daya sebar, daya lekat, dan viskositas. Optimasi dilakukan menggunakan metode faktorial desain dengan *software Design Expert* (DE) versi 11.0 untuk membantu mendesain variasi formula pada preformulasi dan analisis hasil percobaan setelah formulasi. Kemudian dilakukan verifikasi dengan membandingkan hasil prediksi *software* dengan hasil yang aktual menggunakan analisis *one sample t-test* dengan taraf kepercayaan 95%.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun pegagan (Lab. Penelitian Biologi Farmasi UGM), karbopol 940 (Alpha Chemika, Mumbai), HPMC (SARDA Manufacturing Substance Pharmaceutical, Taiwan), metilparaben (PT. Brataco), TEA (PT. Brataco), propilen glikol (PT. Brataco), dan akuades (PT. Brataco). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mikser (IKA RW Lab *Egg Strirer*), termometer, viskosimeter (Rheosys Merlin), alat uji daya sebar, alat uji daya lekat, pH meter (Ohaus), *stopwatch*, anak timbangan, dan pot gel.

Identifikasi Ekstrak Daun Pegagan

Identifikasi ekstrak daun pegagan bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas ekstrak daun pegagan dan menghindari kesalahan dalam penggunaan sampel. Identifikasi ekstrak daun pegagan mengacu pada ketentuan persyaratan identitas ekstrak daun pegagan dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi II berupa uji pemerian, kadar air, abu total, dan kadar asiatikosida.

a. Pemerian

Ekstrak etanol 70% daun pegagan memiliki warna cokelat tua, berbau tidak

khas, dan berasa agak pahit (Anonim, 2017).

b. Kadar air

Penetapan kadar air dalam ekstrak etanol 70% daun pegagan menggunakan metode gravimetri dengan ditimbang lebih kurang 10 g sampel, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang telah ditara. Sampel dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Kemudian sampel dikeringkan dan ditimbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,5 mg. Syarat keberterimaan kadar air tidak lebih dari 10% (Anonim, 2017). Kadar air dapat dihitung menggunakan rumus yang terdapat pada Persamaan 1.

$$\text{Kadar air} = \frac{(W_0+W_1)-W_2}{W_1} \times 10 \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

W₀ : bobot cawan kosong

W₁ : bobot sampel sebelum dipanaskan

W₂ : bobot cawan + sampel setelah dipanaskan

c. Abu Total

Sampel ditimbang sebanyak 2-3g dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, lalu krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis. Krus didinginkan dan ditimbang. Syarat keberterimaan kadar abu total tidak lebih dari 16,6% (Anonim, 2017). Rumus dalam menentukan kadar air sesuai dengan Persamaan 2.

$$\text{Kadar abu total} = \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

d. Kadar asiatikosida

Penentuan kadar asiatikosida dilakukan menggunakan KLT- Densitometri. Uji ini dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor. Uji ini diawali dengan

membuat larutan baku asiatikosida dan menentukan kurva baku yang didapatkan dari pengukuran luas area di bawah kurva bercak pada lempeng silika gel 60 F254. Kemudian dilakukan analisis kuantitatif asiatikosida dengan cara sampel ditimbang lebih kurang 50 mg kemudian dilarutkan dalam 25 mL etanol 70%. Sampel disaring ke dalam labu terukur 50 mL dengan kertas saring yang telah dibilas dengan etanol 70% lalu ditambahkan etanol 70% sampai tanda. Sampel sebanyak 50 µL dan standar asiatikosida 0,1% dalam etanol 70% ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F254. Plat yang sudah ditotolkan dimasukkan ke dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan fase gerak yaitu kloroform P- metanol P-air (65:25:4). Plat dielusikan hingga batas dan dikeringkan. Plat disemprot dengan pereaksi Liebermann-Bourchard dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 10 menit dan diukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 506nm. Lalu kadar asiatikosida dihitung dengan memasukkan luas area bawah kurva yang didapatkan dari densitometer ke dalam nilai Y dalam persamaan kurva baku. Syarat kadar asiatikosida dalam ekstrak tidak kurang dari 0,90% (Anonim, 2017).

Formulasi Gel Ekstrak Daun Pegagan

Gel ekstrak etanol daun pegagan dibuat dengan menentukan formula yang dirujuk dari penelitian Ismarani dkk. (2014) dan dimodifikasi dengan menentukan batas atas dan batas bawah konsentrasi karbopol 940 antara 0,5-2,0% (Rowe dkk., 2009) dan HPMC yaitu 6,5-8% (Mahalingam, 2010). Perbandingan komposisi kedua *gelling agent* diperoleh menggunakan *software* DE versi 11.0 dengan metode desain faktorial, dan didapatkan empat rancangan formula yang

tercantum pada Tabel I dan hasil *run* dari *software* DE versi 11.0 pada Tabel II.

Setelah didapatkan *run* yang berisi variasi konsentrasi *gelling agent*, semua bahan yang akan digunakan ditimbang sesuai tertera pada Tabel II. Akuades dipanaskan hingga suhu 70-80°C. HPMC dikembangkan dalam sebagian akuades panas. Karbopol dikembangkan dalam sebagian air panas pada mortir yang berbeda, kemudian ditambahkan TEA hingga jernih. HPMC yang telah dikembangkan dimasukkan ke dalam mortir karbopol dan diaduk menggunakan mikser selama 10 menit dengan kecepatan 200 rpm. Metil paraben dilarutkan dalam propilen glikol diaduk selama 10 menit dengan kecepatan 200 rpm dan dimasukkan ke dalam campuran basis. Campuran tersebut kemudian ditambahkan ekstrak dan air hingga 100 gram, diaduk selama 10 menit dengan kecepatan 200 rpm, lalu gel ekstrak daun pegagan dimasukkan ke dalam pot gel (Ismarani dkk., 2014).

Uji Sifat Fisik gel

a) Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis gel ekstrak daun pegagan dilakukan secara visual dengan mengamati warna, bau, serta bentuk nya.

b) Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan larutan dapar standar pH 7,00 dan pH 4,00, lalu elektroda dibasuh dengan sedikit akuades dan dikeringkan. Elektroda dimasukkan ke dalam gel hingga alat memperlihatkan nilai pH yang stabil. Catat hasil pembacaan pada tampilan pH meter (SNI, 2019). Menurut Shu (2013), pH sediaan gel yang baik bernilai 4,5-6,5 sesuai dengan pH kulit manusia.

Tabel I. Rancangan formula gel ekstrak pegagan

Bahan	Komposisi Formula (g)			
	F1	Fa	Fb	Fab
Ekstrak pegagan	5	5	5	5
Karbopol 940	0,5	2	0,5	2
HPMC	6,5	6,5	8	8
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Propilenglikol	15	15	15	15
Trietanolamin	0,5	0,5	0,5	0,5
Akuades (ad)	100	100	100	100

Keterangan:

F1 : Karbopol 940 pada level bawah, HPMC pada level bawah

Fa : Karbopol 940 pada level atas, HPMC pada level bawah

Fb : Karbopol 940 pada level bawah, HPMC pada level atas

Fab : Karbopol 940 pada level atas, HPMC pada level atas

Tabel II. Hasil run software DE versi 11.0

Bahan	Run (g)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ekstrak pegagan	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Karbopol 940	0,5	0,5	2	2	0,5	0,5	0,5	2	0,5	2	2	2
HPMC	8	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	8	8	8	8	6,5	8
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Propilenglikol	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Trietanolamin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Aquades (ad)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

c) Uji Viskositas

Tingkat kekentalan gel diuji dengan alat Viskometer Rheosys Merlin. Gel ditimbang 50 mg dan diletakkan pada *plate* dan ditutup dengan *parallel* untuk memulai pengukuran. Pada uji ini digunakan *spindle parallel plate* dengan ukuran 5/30mm. Viskometer otomatis

menampilkan nilai viskositas dan grafik rheogram pada komputer. Uji ini dilakukan di Laboratorium Universitas Ahmad Dahlan menggunakan Viskometer Rheosys Merlin dengan mengatur parameter terlebih dahulu melalui orientasi. Pengaturan parameter terdapat pada Tabel III.

Tabel III. Parameter viskometer Ryheosys Merlin

Parameter	Kriteria
<i>Measuring system</i>	<i>30mm Parallel Plate</i>
<i>Start speed</i>	1
<i>Steps</i>	10
<i>Delay</i>	20 s
<i>End speed</i>	100
<i>Log/Lin</i>	<i>Linear</i>
<i>Integration</i>	0,2 s
<i>Direction</i>	<i>Up</i>

d) Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan gel ekstrak daun pegagan ditimbang sebanyak 1,0 g lalu diletakkan ditengah kaca bulat, kemudian kaca penutup ditimbang terlebih dahulu lalu diletakkan di atas gel dan didiamkan selama 1 menit dan diukur diameter gel yang menyebar. Beban tambahan seberat 150 g diletakkan diatas kaca penutup, didiamkan selama 1 menit dan diukur diameter gel yang menyebar. Gel yang baik memiliki diameter antara 5-7 cm (Garg dkk., 2002). Hasil yang didapatkan dihitung sesuai Persamaan 3.

$$S = m \frac{l}{t} \dots\dots\dots(3)$$

Keterangan:

- S : daya sebar gel
- m (g) : berat beban kaca penutup
- l (cm) : panjang kaca
- t (s) : waktu

e) Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan gel ekstrak daun pegagan diletakkan secukupnya di atas kaca objek lalu diletakkan kaca objek lain di atasnya dan ditekan dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit. Kemudian kaca objek dipasang di alat uji daya lekat dan dilepaskan beban seberat 80 g kemudian diamati dan dicatat waktu yang dibutuhkan untuk kaca objek terpisah (Miranti, 2009).

f) Analisis Data

Optimasi formula gel ekstrak daun pegagan dilakukan menggunakan metode desain faktorial dengan *software* DE versi 11.0. Optimasi formula dilakukan dengan memasukkan variabel bebas konsentrasi karbopol 940 dalam rentang 0,5-2,0% dan HPMC dalam rentang 6,5-8,0%. Data yang dimasukkan sebagai variabel respon adalah pH, viskositas, daya lekat, dan daya sebar. Formula optimum didapatkan berupa perbandingan antara konsentrasi kombinasi karbopol 940 dan HPMC yang dapat menghasilkan sifat fisik optimum pada formula gel ekstrak daun pegagan hasil prediksi *software*.

Formula optimum hasil prediksi *software* DE versi 11.0 di lakukan verifikasi untuk mengetahui hasil prediksi dari model desain faktorial tersebut valid atau tidak dengan cara membandingkan nilai respon formula prediksi dengan nilai respon formula hasil penelitian, kemudian hasil prediksi dan penelitian dianalisis menggunakan *software* SPSS *one sample t-test* dengan taraf kepercayaan 95%. Dari perhitungan akan diketahui perbedaan nilai respon hasil prediksi dengan percobaan. Dapat dikatakan valid jika diperoleh nilai signifikansi >0,05. Nilai ini dapat didefinisikan bahwa hasil antara prediksi dan penelitian tidak memiliki perbedaan signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Ekstrak Daun Pegagan

1. Pemerian

Uji pemerian dilakukan untuk mengetahui kesesuaian hasil dari ekstrakdaun pegagan dengan parameter yang telah ditentukan dalam Farmakope Herbal Indonesia II (Anonim, 2017).

Pemerian tersebut meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa. Dari Tabel IV dapat dilihat bahwa ekstrak daun pegagan yang dihasilkan berbentuk ekstrak kental berwarna cokelat tua, memiliki bau khas ekstrak serta berasa pahit. Hasil pemerian ekstrak daun pegagan sesuai dengan Farmakope Herbal II.

Tabel IV. Hasil uji pemerian ekstrak daun pegagan

Pemerian	Hasil Uji	Standar Mutu Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia II
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Cokelat tua	Cokelat tua
Bau	Bau khas	Bau khas
Rasa	Pahit	Pahit

2. Kadar air

Uji kadar air dilakukan untuk melihat angka persentase air yang terkandung dalam ekstrak. Kandungan air yang telalu tinggi tidak baik untuk ekstrak karena akan menjadi media jamur atau kapang untuk tumbuh dalam ekstrak yang dapat menurunkan aktivitas biologinya (Najib dkk., 2017). Hasil uji kadar air dari ekstrak daun pegagan adalah sebesar $6,22\% \pm 0,311$. Hasil ini sesuai dengan syarat kadar air ekstrak daun pegagan dalam Farmakope Herbal Indonesia yaitu $<10\%$ (Anonim, 2017).

lebih dari 16,6%. Hal ini mengindikasikan bahwa metode ekstraksi sudah benar (Damayanti, 2016).

4. Kadar asiatikosida

Uji kadar asiatikosida dilakukan bertujuan untuk mengetahui konsentrasi asiatikosida yang terkandung dalam ekstrak menggunakan densitometer. Asiatikosida merupakan senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak daun pegagan. Asiatikosida dapat menyebabkan penurunan permeabilitas membran sel bakteri dan menginduksi produksi kolagen untukmenstimulasi proses penyembuhan inflamasi (Arlofa, 2015; Arundina dan Suardita, 2014). Hasil uji kadar asiatikosida yang terdapat dalam ekstrak daun pegagan adalah sebesar $1,61\% \pm 0,105$. Hal ini sesuai dengan syarat pada Farmakope Herbal Indonesia edisi II yaitu kadar asiatikosida dalam ekstrak tidak kurang dari 0,90% (Anonim, 2017). Uji ini dilakukan dikarenakan kadar asitikosida merupakan parameter spesifik dari ekstrak pegagan. Hal ini perlu dilakukan untuk memastikan bahwa sediaan gel yang dibuat dapat memberikan efek seperti yang diharapkan.

3. Kadar abu

Uji ini dilakukan untuk mengetahui persentase mineral yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan yang didapatkan mulai dari proses pertama pembuatan ekstrak hingga terbentuknya ekstrak (Utami dkk., 2017). Kandungan mineral yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan didapatkan hasil sebesar $7,31\% \pm 0,391$. Hasil uji ini sesuai dengan syarat kadar abu ekstrak pegagan yang terdapat dalam Farmakope Herbal Indonesia edisi II yaitu tidak

Hasil Uji Sifat Fisik Gel

1. Organoleptis

Uji pengamatan organoleptis dilakukan secara visual. Evaluasi ini bertujuan untuk melihat

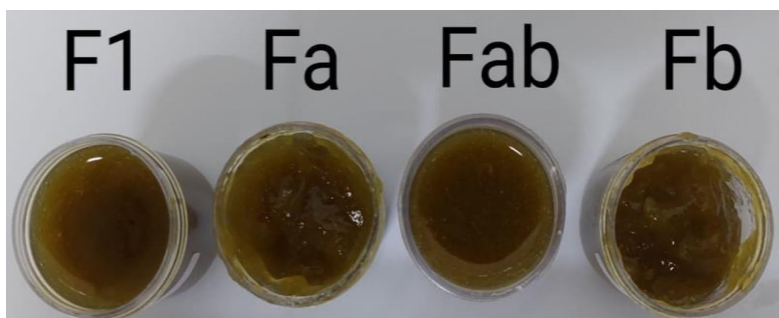
tampilan hasil akhir gel yang berupa bentuk, warna, dan bau sediaan gel. Hasil uji organoleptis gel ekstrak daun pegagan dapat dilihat pada Tabel V dan Gambar 1.

Tabel V. Hasil organoleptis gel ekstrak daun pegagan variasi kombinasi *gelling agent* karbopol 940 dan HPMC

Formula	Organoleptis		
	Bentuk	Warna	Bau
F1	Cair	Cokelat tua	Berbau khas
Fa	Sedikit kental	Cokelat tua	Berbau khas
Fb	Sedikit cair	Cokelat tua	Berbau khas
Fab	Kental	Cokelat tua	Berbau khas

Bentuk yang dihasilkan dari keempat gel ekstrak daun pegagan beragam dari cair hingga kental. Dapat dilihat pada Gambar 1, gel F1 dihasilkan sediaan gel yang cair dikarenakan pada gel tersebut mengandung konsentrasi karbopol 940 dan HPMC paling kecil. Berbeda dengan gel Fab dihasilkan sediaan gel yang kental karena gel

tersebut memiliki konsentrasi karbopol 940 dan HPMC paling besar. Warna yang dihasilkan dari keempat gel ekstrak daun pegagan adalah berwarna cokelat tua. Hal ini dikarenakan ekstrak pegagan yang digunakan berwarna cokelat tua. Keempat formula gel yang dihasilkan mengandung bau khas ekstrak.



Gambar 1. Gel ekstrak daun pegagan variasi kombinasi *gelling agent* karbopol940 dan HPMC

2. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mengetahui nilai derajat keasaman atau kebasaan dari suatu bahan. Nilai pH sediaan gel tidak boleh terlalu asam karena akan mengirititasi kulit dan tidak boleh terlalu basa karena akan menyebabkan kulit bersisik (Budi dan Rahmawati, 2019). Sediaan gel

memiliki syarat nilai pH yang aman digunakan pada kulit yaitu antara 4,5- 6,5 (Shu, 2013). Uji ini dilakukan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi. Tujuan dari kalibrasi ini adalah untuk memastikan bahwa pH meter dapat memberikan hasil yang valid. Data hasil uji pengukuran nilai pH dapat dilihat pada Tabel VI.

Tabel VI. Hasil uji pH gel ekstrak daun pegagan

Formula	Nilai pH ± SD
F1	6,10 ± 0,005
Fa	4,68 ± 0,025
Fb	5,95 ± 0,005
Fab	4,66 ± 0,015

Dari Tabel VI dapat dilihat bahwa keempat formula memiliki nilai pH yang memasuki syarat yaitu antara 4,5-6,5. Berdasarkan penelitian Tambunan dan Sulaiman (2018), semakin tinggi konsentrasi karbopol 940 yang digunakan, maka sediaan gel yang terbentuk akan semakin asam. Hasil penelitian ini sesuai dengan teori tersebut. Pada gel Fa dan Fab memiliki nilai pH paling rendah berturut-turut yaitu 4,68 dan 4,66 dikarenakan pada gel tersebut konsentrasi karbopol 940 berada dalam level tinggi, yaitu 2%. Nilai pH tertinggi ditunjukkan oleh gel F1 dikarenakan gel tersebut mengandung karbopol 940 dan HPMC dengan konsentrasi rendah. Karbopol 940 memiliki pH yang asam antara 2,5-4,0 sehingga semakin sedikit karbopol 940 yang terkandung, pH yang

dihasilkan gel akan semakin tinggi. Analisis statistik pada data hasil uji pH dilakukan dengan metode ANOVA menggunakan *software* DE versi 11.0 untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh secara signifikan terhadap reaksi dari karbopol 940 dan HPMC sebagai *gelling agent* serta kombinasi keduanya. Analisis ini dilakukan untuk mendapatkan nilai signifikansi dari faktor yang mempengaruhi nilai pH gel ekstrak daun pegagan. Hasil dari uji ini menunjukkan bahwa signifikansi <0,05 yang berarti karbopol 940, HPMC, dan kombinasi keduanya berpengaruh secara signifikan terhadap nilai pH sediaan gel yang dihasilkan. Berdasarkan *software* DE diperoleh persamaan desain faktorial terhadap respon pH yang tercantum pada Persamaan 4.

$$Y = 7,37185 - 1,30815XA - 0,123704XB + 0,056296XAXB \dots\dots\dots(4)$$

- Keterangan :
- Y = Respon pH
 - A = Karbopol 940
 - B = HPMC
 - AB = Karbopol 940 dan HPMC

Berdasarkan Persamaan 4, didapatkan koefisien karbopol 940 memiliki nilai negatif lebih tinggi dibandingkan HPMC yang berarti karbopol 940 lebih berpengaruh dalam menurunkan nilai pH dibandingkan HPMC. Hal ini sesuai dengan sifat karbopol 940 yang lebih asam dibandingkan dengan HPMC yaitu karbopol 940 memiliki pH antara 2,5-4,0, sedangkan HPMC memiliki nilai pH sekitar 5,0-8,0 (Rowe dkk., 2009). Kombinasi antara karbopol 940 dan HPMC menghasilkan

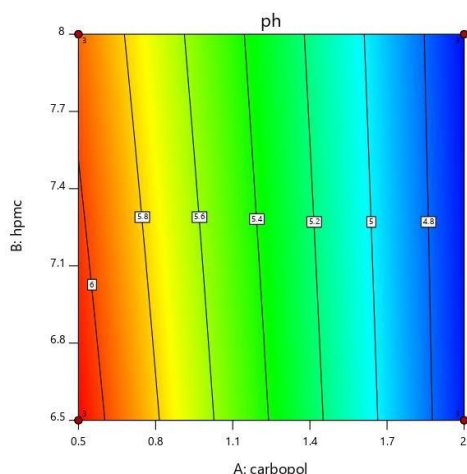
koefisien dengan nilai positif. Hal ini mendefinisikan bahwa kombinasi antar kedua *gelling agent* berpengaruh untuk meningkatkan nilai pH gel ekstrak daun pegagan. Menurut penelitian Ningtyas (2017), interaksi antara karbopol 940 dan HPMC dapat meningkatkan pH. Oleh sebab itu, karbopol 940 dikombinasikan dengan HPMC agar pH gel yang terbentuk tidak terlalu asam (Saryanti dkk., 2019). Hasil pH gel kemudian diolah dengan *software* DE versi 11.0

dan didapatkan persentase kontribusi dari masing-masing faktor yang tersedia pada Tabel VII.

Tabel VII. Persen kontribusi terhadap pH

Faktor	Persen kontribusi
Karbopol 940	99,39%
HPMC	0,35%
Karbopol 940-HPMC	0,21%

Berdasarkan Tabel VII, karbopol 940 memiliki persen kontribusi terbesar yaitu 99,39% yang berarti sangat mempengaruhi hasil pH gel. Karbopol 940 mempunyai sifat yang lebih asam dibandingkan HPMC sehingga karbopol 940



Gambar 2. Contour plot pH

Interaksi antara *gelling agent* dengan respon pH gel yang dihasilkan dapat dilihat melalui warna *contour plot* yang tersedia pada Gambar 9. Semakin menurun respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin biru, sedangkan apabila semakin meningkat respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin merah. Berdasarkan Gambar 2, meningkatnya konsentrasi karbopol 940 menyebabkan penurunan nilai pH, sedangkan menurunnya konsentrasi HPMC menyebabkan peningkatan nilai pH.

lebih berpengaruh dalam menurunkan pH gel. HPMC dan interaksi antar kedua *gelling agent* berkontribusi sangat kecil dalam mempengaruhi nilai pH. *Contour plot* respon pH dapat dilihat pada Gambar 2.

Garis-garis yang terdapat dalam *contour plot* menggambarkan nilai perubahan respon pH yang dipengaruhi oleh karbopol 940 dan HPMC. Semakin vertikal garis maka perubahan respon pH lebih dipengaruhi oleh karbopol 940. Sebaliknya apabila semakin horizontal, maka perubahan respon pH lebih dipengaruhi oleh HPMC. Garis-garis *contour plot* pada Gambar 2 menunjukkan karbopol 940 menjadi faktor utama yang mempengaruhi nilai pH sediaan gel. Hal ini sesuai dengan Tabel VII yaitu karbopol 940 memiliki persentase kontribusi tertinggi dibandingkan HPMC dan kombinasi antar keduanya.

3. Viskositas

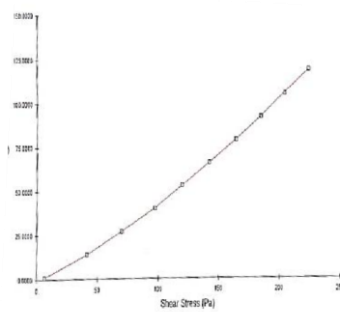
Viskositas digunakan sebagai gambaran suatu tahanan gel untuk mengalir, semakin besar tahanan yang dimiliki oleh gel, semakin tinggi nilai viskositasnya (Sinko, 2011). Kekentalan gel merupakan parameter yang harus diperhatikan karena hal ini berpengaruh dalam kenyamanan saat penggunaan gel. *Gelling agent* yang digunakan akan selalu mempengaruhi kekentalan gel tersebut. Viskositas gel memiliki

syarat antara 2000-4000 cps (Garg dkk., 2002). Berdasarkan Tabel VIII, hasil pengujian viskositas gel ekstrak daun pegagan yang memasuki target viskositas gel yang baik yaitu 2000-4000 cps hanya F1, sebesar $2.969,72 \pm 7,819$ cps. Viskositas dengan nilai paling tinggi dihasilkan oleh gel Fab. Hal ini dikarenakan gel

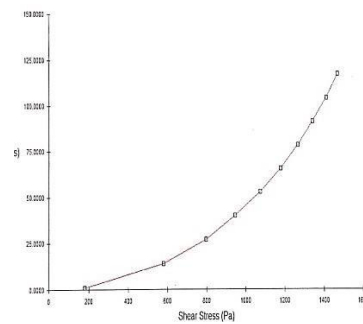
Fab mengandung konsentrasi karbopol 940 dan HPMC tertinggi dibandingkan ketiga formula yang lain. Ketika konsentrasi *gelling agent* ditingkatkan, sediaan gel yang terbentuk akan semakin kental karena banyak cairan yang tertahan dan terikat oleh *gelling agent* (Martin dkk., 2008).

Tabel VIII. Hasil uji viskositas gel ekstrak daun pegagan

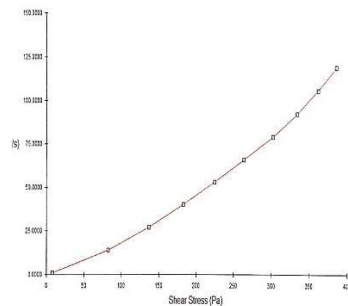
Formula	Viskositas (cps) \pm SD
F1	$2.969,72 \pm 7,819$
Fa	$17.715,72 \pm 387,525$
Fb	$5.235,752 \pm 73,297$
Fab	$22.286,63 \pm 309,348$



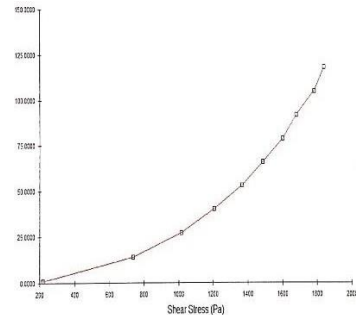
F1



Fa



Fb



Fab

Gambar 3. Hasil rheogram viskositas

Penentuan tipe alir sediaan gel dilakukan dengan mencermati rheogram pada Gambar 3 dan hasil persamaan regresi linear antara *shearing stress* vs *shearing rate* dan \log *shearing stress* vs \log

shearing rate. Persamaan \log *shearing stress* vs \log *shearing rate* semua formula menghasilkan nilai r yang mendekati satu dan nilai *slope* lebih dari positif satu, sehingga sediaan gel ekstrak daun

pegagan memiliki tipe alir pseudoplastik. Sediaan dengan tipe alir pseudoplastik, viskositasnya akan berkurang dengan meningkatnya *shearing stress*. Hal ini menguntungkan, ketika gel berada di dalam kemasan (misal *tube*), maka jika kemasan dipencet, gel akan mudah mengalir ke luar. Kemudahan juga didapatkan saat proses pengisian (*filling*) gel pada kemasan saat proses produksi, karena gel mudah mengalir ketika diberi tekanan gesek.

Analisis statistik pada data hasil uji viskositas dilakukan dengan metode ANOVA menggunakan *software* DE versi 11.0 untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh

secara signifikan terhadap reaksi dari karbopol 940 dan HPMC sebagai *gelling agent* serta kombinasi keduanya. Analisis ini dilakukan untuk mendapatkan nilai signifikansi dari faktor yang mempengaruhi viskositas gel ekstrak daun pegagan. Hasil dari uji ini menunjukkan bahwa signifikansi <0,05 yang berarti karbopol 940, HPMC, dan kombinasi keduanya berpengaruh secara signifikan terhadap nilai kekentalan sediaan gel yang dihasilkan. Berdasarkan *software* DE versi 11.0, hubungan antara respon viskositas dengan *gelling agent* digambarkan dengan persamaan desain faktorial dalam Persamaan 5.

$$Y = -8435,3142 + 3171,1493XA + 1024,5408XB + 998,4160XAXB \dots\dots\dots (5)$$

- Keterangan :
- Y = Respon viskositas
 - A = Karbopol 940
 - B = HPMC
 - AB = Karbopol 940 dan HPMC

Berdasarkan Persamaan 5, didapatkan bahwa semua faktor memiliki nilai koefisien positif yang berarti semua faktor berpengaruh dalam meningkatkan viskositas ekstrak daun pegagan. Karbopol 940 memiliki nilai koefisien positif lebih besar dibandingkan HPMC dan kombinasi antara karbopol 940 dan HPMC yang berarti karbopol 940 lebih berpengaruh dalam meningkatkan viskositas gel ekstrak daun pegagan dibandingkan HPMC dan kombinasi keduanya.

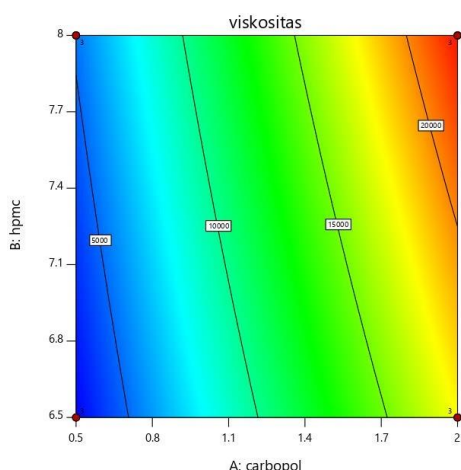
Karbopol 940 dapat membentuk gel karena pada saat karbopol 940 terdispersi dalam air, karbopol 940 akan membentuk larutan koloid asam, kemudian dilakukan penetralan gugus asam karboksilat dengan menambahkan TEA. Gaya tolak-menolak antar muatan negatif menyebabkan polimer-polimer karbopol 940 akan terjalin satu sama lain dengan membentuk *cross link*, sehingga menyebabkan matriks tiga

dimensi untuk membentuk gel yang sangat kental. Semakin tinggi konsentrasi karbopol 940 maka semakin banyak pula polimer yang mengalami *cross link* dan menyebabkan tingkat kekentalan suatu gel semakin tinggi (Suhaimi dkk., 2012). HPMC merupakan polimer turunan selulosa yang pada proses dispersi, molekul primer masuk ke dalam rongga yang dibentuk oleh molekul air, sehingga terjadi ikatan hidrogen antara gugus hidroksil dari polimer dengan molekul air. Ikatan hidrogen tersebut menyebabkan hidrasi pada proses pengembangan HPMC, sehingga semakin tinggi konsentrasi HPMC, gugus hidroksi semakin banyak yang menyebabkan viskositasnya semakin tinggi (Kibbe, 2004). Hasil viskositas kemudian diolah dengan *software* DE versi 11.0 dan didapatkan persentase kontribusi dari masing-masing faktor yang tersedia pada Tabel IX.

Tabel IX. Persen kontribusi viskositas

Faktor	Persen kontribusi
Karbopol 940	95,04%
HPMC	4,39%
Karbopol 940-HPMC	0,45%

Berdasarkan Tabel IX, karbopol 940 menjadi faktor yang paling mempengaruhi kekentalan gel karena memiliki persen kontribusi terbesar yaitu 95,04%. HPMC memiliki persen kontribusi lebih sebesar dibandingkan interaksi antar kedua faktor yaitu 4,39% dan interaksi antar kedua faktor memberikan kontribusi paling kecil sebesar 0,45%. *Contour plot* respon daya lekat ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. *Contour plot* viskositas

Warna *contour plot* pada Gambar 4 menunjukkan interaksi antara respon viskositas gel ekstrak daun pegagan dengan kedua *gelling agent*. Semakin menurun respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin biru, sedangkan apabila semakin meningkat respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin merah. Berdasarkan Gambar 4, dengan adanya peningkatan konsentrasi karbopol 940 dan HPMC, respon viskositas semakin tinggi ditunjukkan dengan warna semakin memerah, sedangkan semakin

rendah konsentrasi karbopol 940 dan HPMC warna yang dihasilkan semakin biru yang berarti viskositas semakin menurun. Hasil ini sesuai dengan penelitian Tanwar dan Jain (2012), ketika konsentrasi *gelling agent* ditingkatkan, sediaan gel yang terbentuk semakin kental dikarenakan nilai viskositasnya meningkat.

Garis-garis yang terdapat dalam *contour plot* menggambarkan nilai perubahan respon viskositas gel yang dipengaruhi oleh karbopol 940 dan HPMC. Apabila garis cenderung ke arah vertikal, karbopol 940 menjadi faktor dominan yang mempengaruhi respon. Sebaliknya apabila garis cenderung ke arah horizontal, maka HPMC menjadi faktor dominan yang mempengaruhi respon. Karbopol 940 memiliki pengaruh dominan terhadap viskositas sediaan gel. Interpretasi ini terlihat dari garis-garis yang terbentuk cenderung ke arah vertikal dalam *contour plot* pada Gambar 4. Hal ini sesuai dengan Tabel IX yaitu karbopol 940 memiliki persentase kontribusi tertinggi dibandingkan HPMC dan kombinasi antar keduanya.

4. Uji daya sebar

Aspek kenyamanan saat penggunaan gel dapat terlihat dari hasil daya sebar. Evaluasi ini dilakukan guna melihat seberapa mudah gel untuk menyebar ketika digunakan pada kulit. Gel memiliki syarat diameter sebar antara 5-7 cm (Garg dkk., 2002), dan jika diubah menjadi daya sebar bernilai 17,044-23,861 gr.cm/detik.

Tabel X. Hasil uji diameter dan daya sebar gel ekstrak daun pegagan

Formula	Diameter sebar (cm) ± SD	Daya sebar (gr.cm/detik) ± SD
F1	7,125 ± 0,09	24,287 ± 0,307
Fa	4,627 ± 0,188	15,566 ± 0,130
Fb	6,325 ± 0,025	21,560 ± 0,085
Fab	3,533 ± 0,052	12,044 ± 0,177

Dapat dilihat pada Tabel X, hanya gel Fb yang memasuki syarat diameter sebar dan memiliki nilai daya sebar yang baik. Gel Fab memiliki diameter sebar dan daya sebar paling kecil di antara keempat formula. Hal ini dikarenakan gel Fab mengandung karbopol 940 dan HPMC pada level tinggi. Menurut penelitian Tambunan dan Sulaiman (2018), seiring meningkatnya konsentrasi karbopol 940 dan HPMC, gel yang dihasilkan memiliki daya sebar yang kecil karena sediaan yang terbentuk semakin kental. Diameter sebar dan daya sebar terbesar dihasilkan oleh gel F1 karena gel tersebut mengandung karbopol 940 dan HPMC pada level rendah, sehingga sediaan yang terbentuk encer.

Analisis statistik pada data hasil uji daya sebar dilakukan dengan metode ANOVA

$$Y = 37,86193 - 3,51163XA - 1,64119XB - 0,354074XAXB \dots \dots \dots (6)$$

- Keterangan :
- Y = Respon daya sebar
 - A = Karbopol 940
 - B = HPMC
 - AB = Karbopol 940 dan HPMC

Berdasarkan Persamaan 6, semua faktor berpengaruh dalam menurunkan daya sebar gel ekstrak daun pegagan. Hal ini ditunjukkan dengan koefisien semua faktor bernilai negatif. Karbopol 940 memiliki nilai koefisien negatif lebih besar dibandingkan HPMC dan kombinasi antara karbopol 940 dan HPMC yang berarti karbopol 940 lebih dominan dalam menurunkan daya sebar gel ekstrak daun pegagan dibandingkan HPMC dan kombinasi keduanya. Karbopol 940 memiliki

menggunakan *software* DE versi 11.0 untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh secara signifikan terhadap reaksi dari karbopol 940 dan HPMC sebagai *gelling agent* serta kombinasi keduanya. Analisis ini dilakukan untuk mendapatkan nilai signifikansi dari faktor yang mempengaruhi daya sebar gel ekstrak daun pegagan. Hasil dari uji ini menunjukkan bahwa signifikansi <0,05 yang berarti karbopol 940, HPMC, dan kombinasi keduanya berpengaruh secara signifikan terhadap nilai daya sebar sediaan gel. Berdasarkan *software* DE versi 11.0, hubungan antara respon daya sebar dengan *gelling agent* digambarkan dengan persamaan desain faktorial dalam Persamaan 6.

rantai polimer yang panjang, semakin panjang jumlah polimernya, maka akan semakin meningkatkan kekentalan suatu gel, sehingga penggunaannya sebagai *gelling agent* dalam konsentrasi yang rendah akan mempengaruhi daya sebar gel secara signifikan (Ande, 2014). Semakin kental suatu konsistensi gel, kemampuan gel untuk menyebar semakin sulit (Afianti dan Murrukmihadi, 2015). Hasil daya sebar kemudian diolah dengan *software* DE versi 11.0 dan

didapatkan persentase kontribusi dari beberapa faktor yang tersedia pada Tabel XI.

Berdasarkan Tabel XI, karbopol 940 memiliki persen kontribusi tertinggi dibandingkan faktor lain yaitu sebesar 89,24%.

HPMC memiliki persen kontribusi sebesar 10,48% dan interaksi antar kedua faktor memberikan kontribusi sebesar 0,17%. *Contour plot* respon daya sebar tersedia pada Gambar 5.

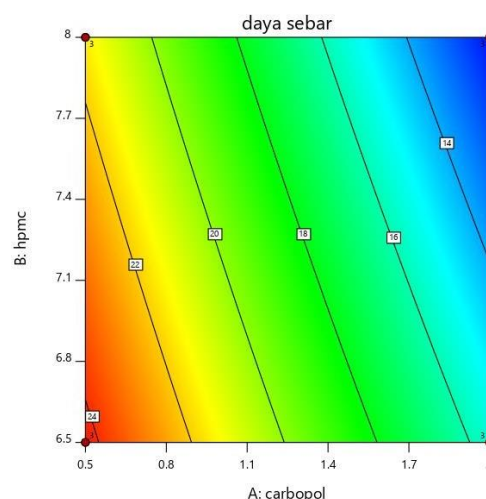
Tabel XI. Persen kontribusi daya sebar

Faktor	Persen kontribusi
Karbopol 940	89,24%
HPMC	10,48%
Karbopol 940-HPMC	0,17%

Warna *contour plot* pada Gambar 5 menunjukkan interaksi antara respon daya sebar gel ekstrak daun pegagan dengan kedua *gelling agent*. Semakin menurun respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin biru, sedangkan apabila semakin meningkat respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin merah. Berdasarkan Gambar 5, seiring dengan bertambahnya konsentrasi karbopol 940 dan HPMC, kemampuan gel untuk menyebar akan semakin rendah, sedangkan semakin rendah konsentrasi karbopol 940 dan HPMC, kemampuan gel untuk menyebar semakin meningkat. Menurut penelitian Tambunan dan Sulaiman(2018), sediaan gel akan semakin kental seiring dengan meningkatnya konsentrasi *gelling agent*, sehingga daya sebar yang dimiliki rendah.

Garis-garis yang terdapat dalam *contour plot* menggambarkan nilai perubahan respon daya sebar yang dipengaruhi oleh karbopol 940 dan HPMC. Apabila garis cenderung ke arah vertikal, karbopol 940 menjadi faktor dominan yang mempengaruhi respon. Sebaliknya apabila garis cenderung ke arah horizontal, maka HPMC menjadi faktor dominan yang mempengaruhi respon. Karbopol 940 memiliki pengaruh dominan terhadap daya sebar sediaan gel. Interpretasi ini terlihat dari garis-garis yang terbentuk cenderung ke arah vertikal dalam *contour plot* pada Gambar 5.

Hal ini sesuai dengan Tabel XI yaitu karbopol 940 memiliki persentase kontribusi tertinggi dibandingkan HPMC dan kombinasi antar keduanya.



Gambar 5. *Contour plot* daya sebar

5. Uji daya lekat

Pengujian daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan gel untuk menempel di kulit. Hal ini diharapkan gel memiliki waktu kontak yang efektif sehingga dapat berefek terhadap khasiatnya. Gel dengan daya lekat lebih dari 4 detik dapat dikategorikan sebagai gel yang baik. (Forestryana., dkk 2020). Berdasarkan Tabel XII, semua formula sediaan gel memenuhi syarat yaitu memiliki waktu lekat lebih dari 4 detik. Gel Fab

memiliki daya lekat paling besar di antara keempat formula. Hal ini dikarenakan gel Fab mengandung karbopol 940 dan HPMC pada level tinggi (2%:8%). Ketika konsentrasi karbopol 940 dan

HPMC ditingkatkan, daya lekat gel akan ikut meningkat disebabkan oleh semakin banyaknya koloid yang terbentuk (Saraung dkk., 2018).

Tabel XII. Hasil uji daya lekat gel ekstrak daun pegagan

Formula	Daya lekat ± SD
F1	4,39 ± 0,005
Fa	69,07 ± 0,068
Fb	21,57 ± 0,062
Fab	91,11 ± 0,090

Daya lekat terkecil dihasilkan oleh gel F1 karena gel tersebut mengandung karbopol 940 dan HPMC pada level rendah (0,5%:6,5%). Gel dengan konsentrasi *gelling agent* karbopol 940 yang rendah memiliki daya lekat paling rendah karena di dalam formulanya memiliki kandungan air yang lebih banyak, sehingga sediaan yang dihasilkan cenderung lebih encer (Saraung dkk., 2018).

Analisis statistik pada data hasil uji daya lekat dilakukan dengan metode ANOVA menggunakan *software* DE versi 11.0 untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh secara signifikan terhadap reaksi dari karbopol

940 dan HPMC sebagai *gelling agent* serta kombinasi keduanya. Analisis ini dilakukan untuk mendapatkan nilai signifikansi dari faktor yang mempengaruhi daya lekat gel ekstrak daun pegagan. Hasil dari uji ini menunjukkan bahwa signifikansi <0,05 yang berarti karbopol 940, HPMC, dan kombinasi kedua nya berpengaruh secara signifikan terhadap daya lekat sediaan gel yang dihasilkan. Berdasarkan *software* DE versi 11.0, hubungan antara respon daya lekat dengan *gelling agent* digambarkan dengan persamaan desain faktorial dalam Persamaan 7.

$$Y = -84,57407 + 29,070373XA + 10,37037XB + 2,16148XAXB \dots\dots\dots(7)$$

- Keterangan :
- Y = Respon daya lekat
 - A = Karbopol 940
 - B = HPMC
 - AB = Karbopol 940 dan HPMC

Berdasarkan Persamaan 7, didapatkan bahwa semua faktor memiliki nilai koefisien positif yang berarti semua faktor berpengaruh dalam meningkatkan daya lekat gel ekstrak daun pegagan. Karbopol 940 menghasilkan nilai koefisien positif lebih besar dibandingkan HPMC dan kombinasi antara karbopol 940 dan HPMC yang berarti karbopol 940 lebih berpengaruh dalam meningkatkan daya lekat gel ekstrak daun

pegagan dibandingkan HPMC dan kombinasi keduanya. Karbopol 940 membentuk koloid karena menyerap air menghasilkan gel yang kental dan lengket sehingga daya lekatnya meningkat (Nailufar, 2013). Hasil daya lekat kemudian diolah dengan *software* DE versi 11.0 dan didapatkan persentase kontribusi dari masing-masing faktor yang tersedia pada Tabel XIII.

Tabel XIII. Persen kontribusi daya lekat

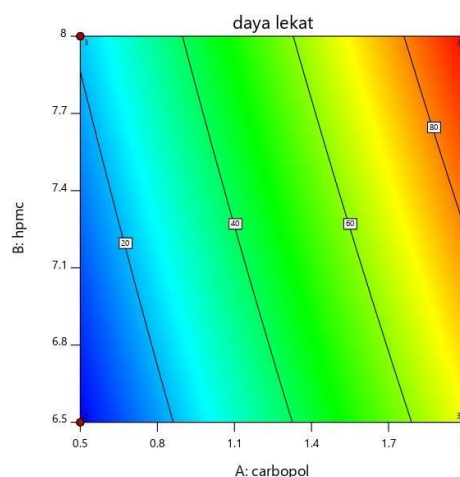
Faktor	Persen kontribusi
Karbopol 940	92,02%
HPMC	7,85%
Karbopol 940-HPMC	0,12%

Berdasarkan Tabel XIII, karbopol 940 menjadi faktor yang paling mempengaruhi daya lekat gel karena memiliki persen kontribusi terbesar yaitu 92,02%. HPMC memiliki persen kontribusi sebesar 7,85% dan interaksi antar kedua faktor memberikan kontribusi sebesar 0,12%.

Contour plot hasil dari respon daya lekat disajikan pada Gambar 6. Warna yang terdapat dalam *contour plot* menunjukkan interaksi antara respon daya lekat gel ekstrak daun pegagan dengan kedua *gelling agent*. Semakin menurun respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin biru, sedangkan apabila semakin meningkat respon yang dihasilkan, maka warna yang ditampilkan akan semakin merah. Berdasarkan Gambar 6, meningkatnya konsentrasi karbopol 940 dan HPMC mengakibatkan waktu lekat gel pada kulit semakin lama, sedangkan menurunnya konsentrasi kedua *gelling agent* tersebut menghasilkan waktu lekat gel yang lebih singkat. Daya lekat berbanding terbalik dengan daya sebar. Semakin rendah daya sebar suatu gel, maka daya lekatnya semakin tinggi. Waktu lekat gel pada kulit akan semakin lama dengan seiring bertambahnya konsentrasi *gelling agent* yang digunakan dikarenakan tiap *gelling agent* memiliki matriks yang kuat (Octavia, 2016).

Garis-garis yang terdapat dalam *contour plot* menggambarkan nilai perubahan respon daya lekat gel yang dipengaruhi oleh karbopol 940 dan HPMC. Apabila garis cenderung ke arah vertikal, karbopol 940 menjadi faktor dominan

yang mempengaruhi respon. Sebaliknya apabila garis cenderung ke arah horizontal, maka HPMC menjadi faktor dominan yang mempengaruhi respon. Sesuai dengan garis-garis yang terbentuk dalam *contour plot* yang disajikan dalam Gambar 6, karbopol 940 memiliki pengaruh dominan terhadap daya lekat sediaan gel. Hal ini sesuai dengan Tabel XIII bahwa karbopol 940 memiliki persentase kontribusi paling tinggi dibandingkan HPMC dan kombinasi antar keduanya.



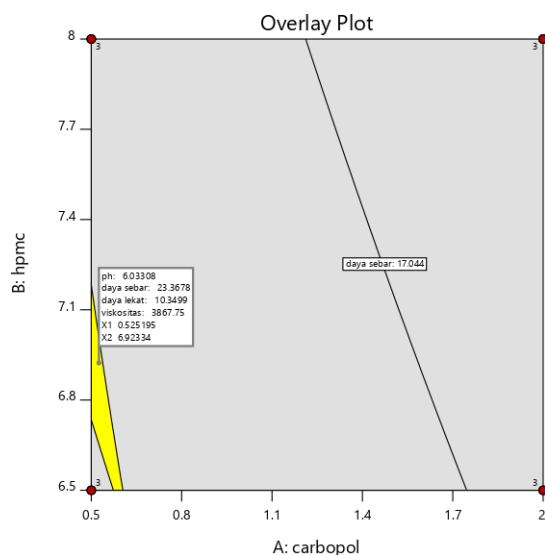
Gambar 6. *Contour plot* daya lekat

Penentuan Formula Optimum

Data yang didapatkan dari hasil variabel respon pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat diolah menggunakan *software* DE versi 11.0. Formula optimal ditetapkan dengan memilih target dan nilai prioritas terhadap respon-respon yang digunakan untuk menghasilkan formula yang optimal. Kriteria formula optimum tersedia dalam Tabel XIV.

Tabel XIV. Kriteria parameter formula optimal

Parameter	Target	Limits		Importance
		Lower	Upper	
pH	<i>In range</i>	4,5	6,5	+++++
Daya sebar (gr.cm/detik)	<i>In range</i>	17,044	23,861	+++
Daya lekat (detik)	<i>In range</i>	4	300	+++
Viskositas (cps)	<i>In range</i>	2000	4000	+++++



Gambar 9. Grafik nilai *desirability* formula optimal

Target parameter terdiri dari *minimize*, *maximize*, dan *in range*. Penentuan target ini didasarkan pada persyaratan dari literatur yang tersedia. *Importance* atau nilai prioritas menggambarkan seberapa penting parameter tersebut dalam menentukan formula optimum. Target parameter pH ditentukan *in range* dan memiliki nilai *importance* plus lima karena nilai pH sangat penting harus berada pada *range* 4,5-6,5 (Shu, 2013) agar tidak mengiritasi kulit. Parameter daya sebar memiliki target *in range* yaitu antara 17,044-23,861 gr.cm/detik dengan harapan formula optimal mempunyai diameter sebar gel antara 5-7 cm. Daya lekat memiliki target *in range* agar gel hasil proses optimasi diarahkan untuk memiliki daya lekat antara 4–300 detik (Betageri dan Prabhu, 2002). Target viskositas ditentukan *in range* antara 2000-4000 cps, berdasarkan syarat

viskositas gel yang baik (Garg dkk., 2002). Parameter viskositas dipilih mempunyai nilai prioritas plus lima dikarenakan kekentalan dari gel sangat mempengaruhi kenyamanan saat penggunaan, viskositas juga mempengaruhi nilai daya sebar dan daya lekat, serta diharapkan dengan viskositas memenuhi target, gel ini dapat terlokalisasi baik pada titik-titik jerawat.

Ketika semua kriteria parameter telah ditentukan, *software* menghasilkan nilai *desirability* seperti pada Gambar 9 yaitu sebesar 1,000. Nilai *desirability* tersebut menunjukkan bahwa formula yang dihasilkan semakin sesuai dengan formula optimum yang diinginkan berdasarkan variabel yang telah ditetapkan. Berdasarkan *software*, didapatkan formula gel ekstrak daun pegagan yang optimal dengan kombinasi karbopol 940 dan HPMC, secara

berturut-turut adalah 0,525 gram dan 6,923 gram. Hasil prediksi untuk parameter gel optimal dihasilkan untuk respon pH sebesar 6,033; daya sebar sebesar 23,368 gr.cm/detik; daya lekat sebesar 10,351 detik; dan viskositas sebesar 3867,871 cps.

Verifikasi Formula Optimum

Verifikasi dilakukan untuk mengetahui hasil prediksi dari model desain faktorial yang dihasilkan dari *software* valid atau tidak dengan cara membandingkan respon hasil prediksi *software* dengan respon hasil penelitian. Langkah

ini dilakukan menggunakan analisis *one sample t-test* menggunakan *software* SPSS dengan taraf kepercayaan 95%.

Berdasarkan Tabel XV, hasil analisis *one sample t-test* antara hasil prediksi dan hasil aktual semua parameter memiliki nilai signifikansi >0,05. Nilai ini dapat didefinisikan bahwa hasil antara prediksi dan penelitian tidak memiliki perbedaan signifikan. Hal ini menandakan bahwa hasil prediksi *software* valid digunakan untuk menyusun formula yang memberikan parameter optimum gel ekstrak daun pegagan.

Tabel XV. Perbandingan hasil respon prediksi dan aktual

Parameter	Prediksi	Aktual	Sig	Keterangan
pH	6,033	6,00	0,342	Berbeda tidak signifikan
Daya sebar	23,368	23,264	0,556	Berbeda tidak signifikan
Daya lekat	10,351	10,257	0,495	Berbeda tidak signifikan
Viskositas	3867,871	3824,853	0,809	Berbeda tidak signifikan

KESIMPULAN

Kombinasi *gelling agents* karbopol 940 dan HPMC mempengaruhi sifat fisik sediaan gel yaitu dapat meningkatkan pH, daya lekat, dan viskositas serta dapat menurunkan daya sebar sediaan gel ekstrak daun pegagan. Formula optimum diperoleh dari kombinasi karbopol dan HPMC sebesar 0,525 gram : 6,923 gram dalam setiap 100 gram gel ekstrak daun pegagan, dan menghasilkan pH 6,00; daya sebar 23,368 gr.cm/detik; daya lekat 10,351 detik; dan viskositas 3867,871 cps.

DAFTAR PUSTAKA

Afianti, H.P., dan Murrukumihadi, M., 2015, Pengaruh Variasi Kadar *Gelling Agent* HPMC terhadap Sifat Fisik dan Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanolik

Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L. forma citratum Back.), *Majalah Farmasetik*, 11(2): 307-315.

Ande, B., 2014, Pengaruh Penambahan Konsentrasi *Carbopol* 940 pada Sediaan *Sunscreen* Gel Ekstrak Temu Giring (*Curcuma heyneana* val.) terhadap Sifat Fisik dan Stabilitas Sediaan dengan Sorbitol sebagai *Humectant*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

Anggraeni, Y., Hendradi, E., dan Purwanti, T., 2012, Karakteristik Sediaan dan Pelepasan Natrium Diklofenak dalam Sistem Niosom dengan Basis Gel *Carbomer 940*, *Pharma Scientia*, 1(1): 1-15.

Anonim, 2014, *Farmakope Indonesia*, Edisi V, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Anonim, 2017, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi II, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Arlofa, N., 2015, Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Kulit Durian sebagai Bahan Aktif Pembuatan Sabun, *Jurnal Chemtech*, 1(1): 18-22.

Arundina, I., dan Suardita, K., 2014, Efek pegagan (*Centella asiatica* L) terhadap Proliferasi *Mesenchymal Stem Cell*, *Dentofasial*, 13(1): 43-47

- Ayudianti, P., dan Indramaya, D.M., 2014, Studi Retrospektif: Faktor Pencetus Akne Vulgaris, *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 26(1): 1-7.
- Badan Standarisasi Nasional, 2019, SNI 6989.11:2019, Cara Uji Derajat Keasaman (pH) dengan Menggunakan pH Meter, *Badan Standarisasi Nasional*, Jakarta.
- Betageri, G., dan Prabhu, S., 2002, *Semisolid Preparation*, dalam Swarbrick, J., dan Boylan, J.C., *Encyclopedia of Pharmaceutical technology*, Edisi II, Vol. 3, Marcel Dekker Inc., New York
- Budi, S., dan Rahmawati, M., 2019, Pengembangan Formula Gel Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) sebagai Antijerawat, *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(2): 51-55.
- Damayanti, A.T.R., 2016, Pengaruh Konsentrasi HPMC dan Propilen Glikol terhadap Sifat dan Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban), *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Fissy, S.O.N., Sari, R., dan Pratiwi, L., 2014, Efektivitas Gel Anti Jerawat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(2):193-201.
- Forestryana, D., Fahmi, M. S., dan Putri, A. N., 2020, Pengaruh Jenis dan Konsentrasi *Gelling Agent* pada Karakteristik Formula Gel Antiseptik Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Pisang Ambon, *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(2): 45-51.
- Garg, A., D, Aggarwal, S, Garg., dan A, K, Sigla., 2002, Spreading of Semisolid Formulation: An Update, *Pharmaceutical Technology*, 84-105. 16(2): 1310-1322.
- Ismarani, D., Pratiwi, L., dan Kusharyanti, I., 2014, Formulasi Gel Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 1(1):30-45.
- Kibbe, A.H., 2004, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Third Edition, Pharmaceutical Press, London.
- Kuo, C. W., Chiu, Y. F., Wu, M. H., Li, M. H., Wu, C. N., Chen, W. S., dan Huang, C. H., 2021, Gelatin/Chitosan Bilayer Patches Loaded with Cortex *Phellodendron amurense*/*Centella asiatica* Extracts for Anti-Acne Application, *Polymers*, 13(4):579.
- Mahalingam, R., Li, X., dan Jasti, B. R., 2010, Semisolid Dosages: Ointments, Creams, and Gels, *Pharmaceutical Sciences Encyclopedia: Drug Discovery, Development, and Manufacturing*, 28.
- Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, A., 2008, *Farmasi Fisik*, Edisi Ketiga, UI Press, Jakarta.
- Miranti, L., 2009, Pengaruh konsentrasi minyak atsiri kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan Basis Salep Larut Air Terhadap Sifat Fisik Salep dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Nailufar, N.P., 2013, Pengaruh Variasi *Gelling Agent Carbomer* 934 dalam Sediaan Gel Ekstrak Etanolik Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosasinensis* L.) terhadap Sifat Fisik Gel dan Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., dan Waris, R., 2017, Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda dan Teh Hijau, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2):241-245.
- Ningtyas, H.A., 2017, Optimasi HPMC dan Karbopol Dalam Sediaan Emulgel Ketoprofen Secara *Simplex Lattice Design*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Nurrosyidah, Iif Hanifa, Retna Hermawati, dan Milu Asri., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara in vitro, *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 1(2): 45-57.
- Octavia, N., 2016, Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Minyak Atsiri Pala (*Myristica fragrans* Houtt.): Uji Stabilitas Fisik dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Pricillya, M.L., Falestin, S.L.K., dan Julisna, S., 2019, Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol 96% Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) dengan Hidroksietil Selulosa sebagai *Gelling Agent*, *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(2): 131-139.
- Rahmawati, D.A., dan Setiawan, I., 2019, The Formulation and Physical Stability Test of Gel Fruit Strawberry Extract (*Fragaria x ananassa* Duch.), *Journal of Nutraceuticals and Herbal Medicine*, 2(1): 38-46.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., dan Quinn, M.E., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Edisi ke-6, Pharmaceutical Press and American Pharmacist Assosiation, London.
- Saraung, V., Yamlean, P.V., Citraningtyas, G., 2018, Pengaruh Variasi Basis Karbopol dan HPMC

- Pada Formulasi Gel Ekstrak Etanol Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-Caprae* (L.) R. Br. dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *PHARMACON*, 7(3): 220-229.
- Saryanti, D., Nugraheni, D., Astuti, N.S., dan Pertiwi, N.I., 2019, Optimasi Karbopol dan HPMC dalam Formulasi Gel Antijerawat Nanopartikel Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn), *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 5(2): 192-199.
- Shu, M., 2013, Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer dengan Bahan Aktif Triklosan 0, 5% dan 1%, *Calyptra*, 2(1): 1-14.
- Sinko, P.J., 2011, *Martin Farmasi Fisika dan Ilmu Farmasetika*, Edisi ke-5, EGC, Jakarta.
- Soebagio, T. T., Hartini, Y. S., dan Mursyanti, E., 2020, Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Wajah Cair Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*, *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 5(2): 69-80.
- Suhaime, I.H.B., Tripathy, M., Mohamed, M.S., dan Majeed, A.B.A., 2012, The Pharmaceutical Applications of Carbomer, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2 (2): 1-12.
- Sulaiman, S.N.T., dan Tambunan, S., 2018, Formulasi Gel Minyak Atsiri Sereh dengan Basis HPMC dan Karbopol, *Majalah Farmasetik*, 14(2): 87-95.
- Surini, S., dan Djajadisastra, J., 2018, Formulation and In Vitro Penetration Study of Transfersomes Gel Containing Gotu Kola Leaves Extract (*Centella asiatica* L. Urban), *Journal of Young Pharmacists*, 10(1): 27-31.
- Tanwar, Y.S., dan Jain, A.K., 2012, Formulation and Evaluation of Topical Diclofenac Sodium Gel Using Different Gelling Agent, *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*, 4(1): 1-6.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., dan Kadullah, I., 2017, Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.), *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1): 32-39.

ARTIKEL

PENGARUH KONSENTRASI BIJI KEFIR DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI KEFIR SUSU SAPI DAN KEFIR SUSU KACANG TANAH PADA BAKTERI *Shigella dysenteriae*

PENGARUH KONSENTRASI BIJI KEFIR DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI KEFIR SUSU SAPI DAN KEFIR SUSU KACANG TANAH PADA BAKTERI *Shigella dysenteriae*

Nanik Sulistyani^{1*}, Eliza Dwinta²

¹Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

²Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Alma Ata

ABSTRACT

Kefir can be made from animal milk or from vegetable ingredients. Peanut milk contains protein that is almost equivalent to the protein content of animal milk. The purpose of this study was to determine the organoleptic properties of cow's milk kefir and peanut milk kefir for consumption, the effect of the concentration of kefir grains and the optimal time of kefir fermentation to produce good antibacterial activity on *Shigella dysenteriae* bacteria. In this study, the formula for cow's milk kefir and peanut milk kefir was made with a concentration of 1% kefir grains; 2.5% and 4% with variations in fermentation time with a span of 8 hours for 5 days. The antibacterial activity test was carried out by the well method and tested for the pH value of each concentration of kefir grains. The results obtained were statistically tested with SPSS. The results showed that a good pH of cow's milk kefir (3.8-4.6) at a concentration of 1% was obtained after incubation 40-72 hours, a concentration of 2.5% after incubation 56-96 hours, and a concentration of 4% after incubation 16-72 hours. 88 hours. While the good fermentation time for peanut milk kefir fermentation is 1% concentration after 88-120 hours of incubation, 2.5% concentration after 40-96 hours of incubation, and 4% concentration after 40-88 hours of incubation. The antibacterial and organoleptic activity of kefir of cow's milk kefir and peanut milk kefir at concentrations of 1%, 2.5% and 4% showed no significant difference ($p>0.5$).

Keywords: Kefir Seed Concentration, Fermentation Time, Antibacterial, *Shigella dysenteriae*, Cow's Milk, Peanut Milk

ABSTRAK

Kefir dapat dibuat dari susu hewani maupun dari bahan nabati. Susu kacang tanah mengandung protein yang hampir setara dengan kandungan protein susu hewani. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui organoleptis kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah untuk dikonsumsi, pengaruh konsentrasi biji kefir dan waktu optimal fermentasi kefir untuk menghasilkan aktivitas antibakteri yang baik pada bakteri *Shigella dysenteriae*. Pada penelitian ini, formula kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah dibuat dengan konsentrasi biji kefir 1%; 2,5% dan 4% dengan variasi waktu fermentasi dengan rentang waktu 8 jam selama 5 hari. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran dan diuji nilai pH setiap konsentrasi biji kefir. Hasil yang diperoleh diuji statistik dengan SPSS. Hasil penelitian menunjukkan pH kefir susu sapi yang baik (3,8-4,6) pada konsentrasi 1% diperoleh setelah inkubasi 40-72 jam, konsentrasi 2,5% setelah inkubasi 56-96 jam, dan konsentrasi 4% setelah inkubasi 16-88 jam. Sedangkan waktu fermentasi yang baik untuk fermentasi kefir susu kacang tanah konsentrasi 1% setelah inkubasi 88-120 jam, konsentrasi 2,5% setelah inkubasi 40-96 jam, dan konsentrasi 4% setelah inkubasi 40-88 jam. Aktivitas antibakteri kefir dan organoleptis kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah konsentrasi 1%, 2,5% dan 4% menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan ($p>0,5$).

Kata kunci: Konsentrasi Biji Kefir, Lama Fermentasi, Antibakteri, *Shigella dysenteriae*, Susu Sapi, Susu Kacang Tanah

*Corresponding author. Email: naniksulistyani@gmail.com

PENDAHULUAN

Pada zaman modern ini, semakin banyak penyakit yang timbul akibat infeksi bakteri pathogen, salah satunya adalah *Shigella dysenteriae*. *S. dysenteriae* jika menginfeksi manusia akan mengakibatkan diare (disentri) yang memiliki ciri-ciri penyakit seperti buang air besar berdarah dan berlendir, diare encer dengan volume sedikit, dan nyeri saat buang air besar (Khan et al., 2013; McCrickard et al., 2018). Untuk menyembuhkan diare yang disebabkan oleh bakteri diperlukan antibiotik. Pengobatan dengan antibiotik ini mempunyai kelemahan, seperti menimbulkan efek hipersensitif, alergi, dan yang ditakutkan adalah resistensi terhadap antibiotik. Mikroorganisme pathogen yang resisten terhadap antibiotik sangat sulit dieliminasi selama proses infeksi, dan infeksi oleh beberapa strain bakteri dapat berakibat letal (kematian) (Pratiwi, 2008; Tacke et al., 2019).

Kefir merupakan produk olahan susu, yang dihasilkan dari fermentasi susu yang dipasteurisasi kemudian ditambah starter biji kefir (kefir grains/kefir granule), berupa butiran-butiran putih atau krem (Aryanta, 2021; Dewi et al., 2018)). Saat proses fermentasi, dihasilkan asam laktat yang bersifat sebagai penghambat bakteri pathogen, yaitu dari laktosa yang terkandung dalam susu yang merupakan medium fermentasi (Arques et al., 2015). Produk fermentasi kefir ini dipengaruhi oleh kemampuan starter dalam membentuk asam laktat yang ditentukan oleh jumlah dan jenis starter yang digunakan (Albaari dan Murti, 2003). Jumlah starter atau konsentrasi starter dalam medium fermentasi nantinya akan berpengaruh pada pH kefir dan aktivitas antibakteri (Wijaningsih, 2008).

Sekarang ini, dengan perkembangan yang semakin baik, susu tidak hanya berasal dari hewan, namun bisa juga dari kacang-kacangan. Susu kacang tanah merupakan susu yang dibuat dari sari kacang tanah. Susu kacang tanah ini bisa dikembangkan untuk upaya pembuatan inovasi minuman probiotik yang berkualitas dengan penambahan starter 2,5% dan diinkubasi 24 jam (Fратиwi, et. al., 2008). Adanya peluang tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah organoleptis kefir susu kacang tanah setara dengan kefir susu komersial dan untuk mengetahui berapa konsentrasi biji kefir yang dapat menghasilkan bakteri asam laktat serta lama fermentasi optimal.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Susu sapi diperoleh dari Agromart UGM, sedangkan susu kacang tanah dibuat sendiri dengan bahan kacang tanah yang diperoleh dari Pasar Legi, Bugisan, Yogyakarta. Biji kefir sebagai starter diperoleh dari Keluarga Kefir Yogyakarta, yang beralamat di Jalan Timoho. Sampel stok bakteri *Shigella dysenteriae* diperoleh di UMY (Universitas Muhammadiyah Yogyakarta), Yogyakarta.

Pembuatan kefir susu sapi segar

Susu sapi segar sebanyak 100 ml dipanaskan pada suhu 60-70°C selama 30 menit kemudian didinginkan sampai mencapai suhu 28°C, dimasukkan 1%; 2,5%; dan 4% biji kefir dan diaduk merata, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari yang terbagi ke dalam konikel-konikel dan dilakukan pengambilan setiap 8 jam untuk masing-masing konsentrasi. Bila sudah terbentuk gumpalan, disaring dengan

penyaring plastik untuk mendapatkan biji kefir kembali (Kinteki, et al.,2018).

Pembuatan kefir susu kacang tanah

Kacang tanah disortasi dan dicuci lalu direndam dalam air selama satu malam. Kemudian kulit kacang dikupas, lalu dihancurkan dengan blender, perbandingan air : kacang tanah adalah 8 liter air : 1 kg kacang tanah. Selanjutnya kacang disaring dengan kain saring untuk memperoleh filtrate atau susu kacang yang murni. Tambahkan gula sebanyak 4%, dididihkan susu kacang tanah sambil diaduk. Susu kacang tanah yang telah mendidih dimasukkan ke dalam botol steril dan didinginkan pada suhu kamar (Fратиwi et al., 2008).

Uji Kualitatif

Uji yang dilakukan adalah uji organoleptis meliputi uji warna, uji bau, uji rasa, uji dan kekentalan serta uji pH. Kurang lebih 5 ml kefir dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilihat dengan latar belakang putih untuk diamati warnanya. Untuk menguji bau, kefir tersebut dicium aromanya. Uji rasa dilakukan dengan mencicipi kefir yang telah dibuat. Kefir dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimiringkan secara perlahan-lahan dan diamati kecepatan susu mengalir untuk mengetahui kekentalannya (Diastari dan Agustina, 2013). Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH-meter.

Uji aktivitas antibakteri

Kultur bakteri *S. dysenteriae* digoreskan pada media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diambil 100 µL dimasukkan ke dalam BHI, inkubasi pada suhu 37°C selama 4-8 jam lalu disuspensikan ke dalam NaCl 0,9%. Setelah itu dibandingkan dengan standar Mc Farland (10^8 CFU/ml) untuk mengukur

kekeruhannya. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran bakteri *S. dysenteriae* berumur 24 jam. Masing-masing kefir diuji tiga kali pengulangan. Kontrol positif didapatkan dengan melarutkan 0,5 gram antibiotik Amoksisilin ke dalam 100 ml aquades. Kontrol negative didapatkan dengan menggunakan susu sapi dan susu kacang tanah tanpa penambahan biji kefir. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan statistika. Dilakukan uji pendahuluam dengan uji Kolmogorov-Smirnov untuk memeriksa normalitas data dan uji Levene untuk melihat homogenitas data. Jika data yang diuji terdistribusi normal dan homogen ($p>0,05$), maka dilanjutkan dengan uji parametrik meliputi *two ways* ANOVA tanpa interaksi, uji lanjutan Tukey-Duncan untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar kelompok (Ghozali, 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Organoleptis

Pengujian organoleptis bertujuan untuk mengetahui karakteristik produk kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah berdasarkan bentuk organoleptis dari produk kefir komersial yang telah beredar di pasaran dengan ijin edar. Hasil uji warna dapat dilihat pada Gambar 1.

Kefir susu sapi mmiliki warna putih setelah difermentasi 8-72 jam, dan lama fermentasi 80-120 jam warna kefir berubah menjadi putih kekuningan. Kefir susu kacang tanah memiliki warna putih pada setiap sampel dengan lama fermentasi yang berbeda.



Gambar 1. Hasil uji warna. (A) Kefir susu sapi 1%, 2,5% dan 4% lama fermentasi 8 jam. (B) Kefir susu sapi 1%, 2,5% dan 4% lama fermentasi 120 jam. (C) Kefir susu kacang tanah 1%, 2,5% dan 4% lama fermentasi 8 jam. (D) Kefir susu kacang tanah 1%, 2,5% dan 4% lama fermentasi 120 jam.

Pada pengujian bau, responden berpendapat bahwa pada kefir susu sapi dengan konsentrasi biji kefir 1%, 2,5%, dan 4% bau menyimpang tercium pada lama fermentasi 80-120 jam. Sedangkan pada kefir susu kacang tanah konsentrasi biji kefir 1% dan 2,5% lama fermentasi 104-120 jam, serta konsentrasi 4% lama fermentasi 88-120 jam memiliki bau yang menyimpang.

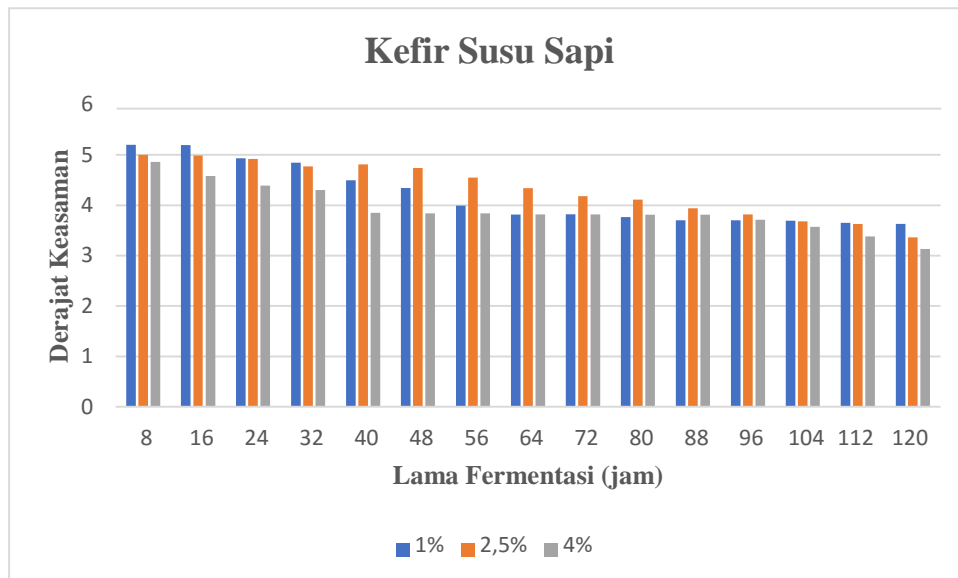
Hasil pengujian menunjukkan sebagian responden berpendapat bahwa kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah memiliki rasa asam yang sama dengan kefir komersial. Rasa yang diproduksi kefir susu sapi untuk memberikan rasa yang sama dengan kefir komersial pada konsentrasi biji kefir 1% dan 2,5% adalah 40-72 jam, serta konsentrasi 4% adalah 32-56 jam. Pada kefir susu kacang tanah konsentrasi biji kefir 1% membutuhkan lama fermentasi 32-64 jam,

konsentrasi 2,5% membutuhkan 16-56 jam, dan konsentrasi 4% membutuhkan 32-56 jam.

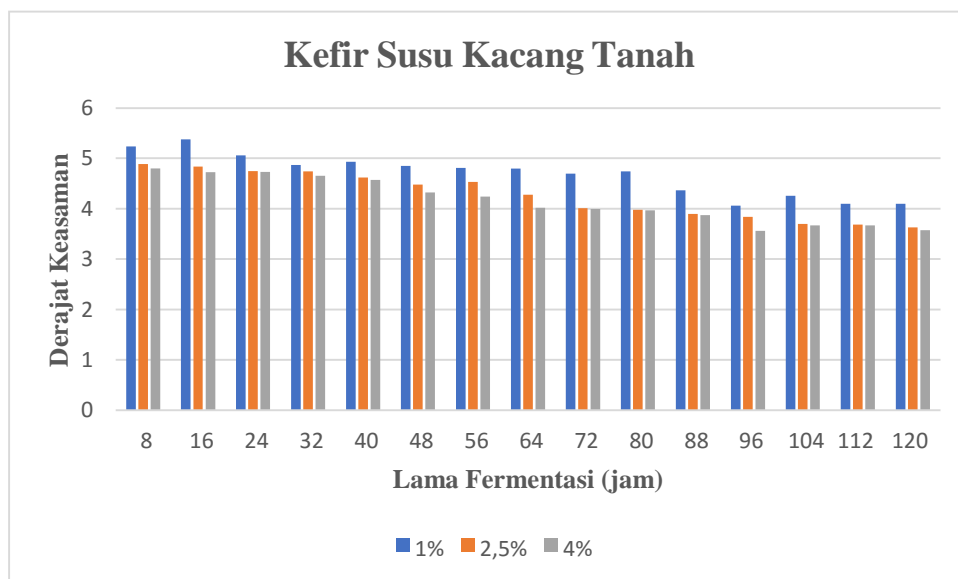
Pada pengujian kekentalan didapatkan hasil bahwa fermentasi yang dibutuhkan kefir susu sapi konsentrasi biji kefir 1% adalah 80-120 jam, konsentrasi biji kefir 2,5% dan 4% adalah 72-120 jam. Sedangkan lama fermentasi yang dibutuhkan kefir susu kacang tanah pada konsentrasi biji kefir 1% dan 2,5% adalah 96-120 jam, dan konsentrasi biji kefir 4% adalah 80-120 jam.

Hasil uji pH

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah kefir dengan berbagai macam konsentrasi biji kefir dapat menghasilkan metabolit berupa asam-asam organik. Hasil uji pH kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Grafik pH Kefir Susu Sapi.



Gambar 3. Grafik pH Kefir Susu Kacang Tanah

Dari hasil pengukuran derajat keasaman (pH) pada produk kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah berbagai konsentrasi menghasilkan pH dengan nilai yang berbeda-beda. Nilai pH menurun pada semua perlakuan setelah dilakukan fermentasi dengan konsentrasi biji kefir yang semakin meningkat pada kefir susu sapi maupun kefir susu kacang tanah. Hal ini berhubungan dengan total asam yang dihasilkan, yaitu semakin lama fermentasi dan semakin tinggi konsentrasi biji kefir, maka semakin banyak mikroorganisme

yang aktif dan akan menghasilkan asam laktat yang lebih banyak. Konsentrasi starter biji kefir berpengaruh terhadap pH kefir dan aktivitas antibakteri (Wijaningsih, 2008).

Pada penelitian ini, kefir memiliki kisaran pH 3,13-5,20 untuk kefir susu sapi dan kisaran pH 3,57-5,24 untuk kefir susu kacang tanah. Sedangkan kefir memiliki pH sebesar 4,6 (Usmiati, 2007), sedangkan menurut Oberman (1985) nilai pH kefir berkisar antara 3,8-4,6.

Data yang diperoleh diuji statistic SPSS menunjukkan data tersebut terdistribusi normal tetapi tidak homogen, maka pengujian dilakukan dengan Uji Tamhane untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok dengan lama fermentasi dan konsentrasi biji kefir terhadap kontrol negative. Dari data nilai pH kefir susu sapi didapatkan hasil dari beberapa kelompok yang memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol negative ($<0,05$), yaitu pada lama fermentasi 88-96 jam dengan konsentrasi biji kefir 1%, 8-16 jam pada konsentrasi biji kefir 2,5%, dan lama fermentasi 16 jam, 71 jam, serta 80 jam dengan konsentrasi biji kefir 4%. Hasil pengujian kefir susu kacang tanah yang juga menunjukkan beberapa kelompok yang memiliki perbedaan signifikan terhadap kontrol negative ($<0,05$), diantaranya adalah lama fermentasi 56-72 jam dengan konsentrasi biji kefir 1%, lama fermentasi 40 jam dan 112 jam dengan konsentrasi biji kefir 2,5%, dan lama fermentasi 8 jam, serta 24 jam dengan konsentrasi biji kefir 4%. Kelompok lain menunjukkan signifikansi di atas 0,05 yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna.

Semua kelompok kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah dibandingkan dengan uji Kruskal-Wallis, dan diperoleh hasil signifikansi 0,052 ($>0,05$) yang artinya antar kelompok tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam menurunkan pH.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar terhadap *S. dysenteriae* (Gambar 4, 5 dan 6). Kontrol positif (50 mL Amoksisilin 0,5%) menghasilkan diameter zone hambat 18,75 cm. Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya diameter zone hambat.

Berdasarkan hasil pengukuran, terjadi peningkatan aktivitas antibakteri kefir susu sapi

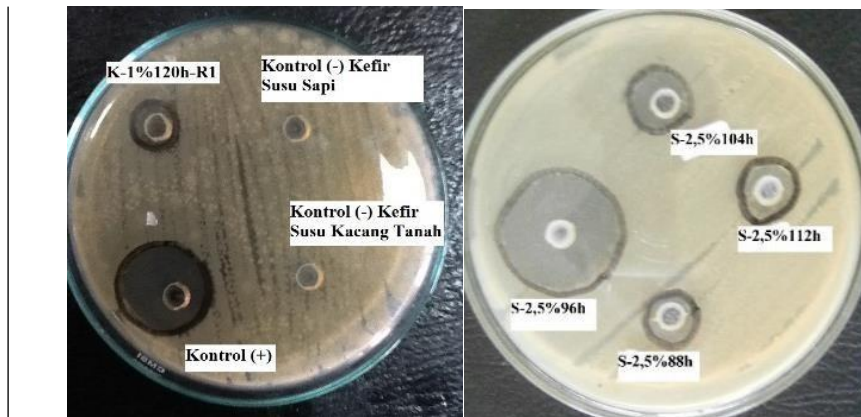
dan kefir susu kacang tanah diikuti penurunan aktivitas antibakteri setelah dilakukan fermentasi selama 16-120 jam dengan konsentrasi biji kefir 1%, 2,5%, dan 4%. Aktivitas antibakteri yang diukur dengan diameter zona bening adalah 2,08 mm – 9,08 mm untuk kefir susu sapi, sedangkan pada kefir susu kacang tanah sebesar 1,17 mm - 9,08 mm.

Ketentuan kekuatan aktivitas antibakteri adalah: daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, daerah hambatan 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Rahayu et al, 2021). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan standar tersebut aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah terhadap bakteri *S. dysenteriae* termasuk kategori sedang.

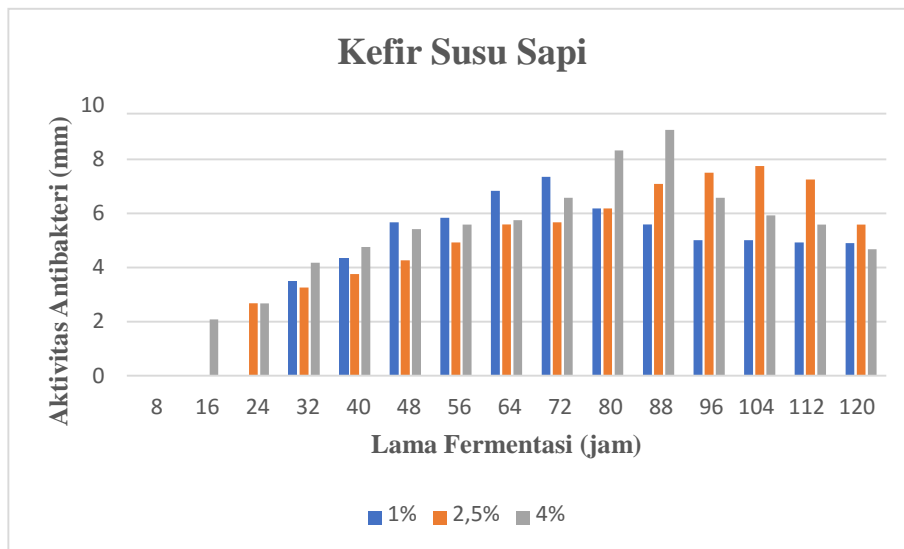
Senyawa antimikroba diperoleh dari metabolit-metabolit bakteri asam laktat, di antaranya asam organik, hydrogen peroksida, dan bakteriosin. Penghambatan pertumbuhan pada mikroba yang disebabkan oleh asam organik diakibatkan adanya pelepasan proton ke dalam sitoplasma sehingga pH dalam membrane sel menjadi sangat asam secara mendadak (Ouweland dan Vesterlund, 2004).

Lisisnya sel menyebabkan senyawa-senyawa antibakteri lain berdifusi dengan mudah ke dalam sel sehingga mempercepat kematian bakteri. Asam laktat dalam kefir dapat menghasilkan senyawa-senyawa yang memiliki kemampuan bakteriostatik maupun bakteriosidal sesuai dengan konsentrasinya dalam suatu larutan. Senyawa antibakteri lain seperti diasetil akan menonaktifkan enzim-enzim penting dan memodifikasi sisi katalitik enzim sehingga menyebabkan gangguan reaksi enzimatik. Senyawa antimikroba seperti H_2O_2 berperan sebagai bahan pengoksidasi kuat yang

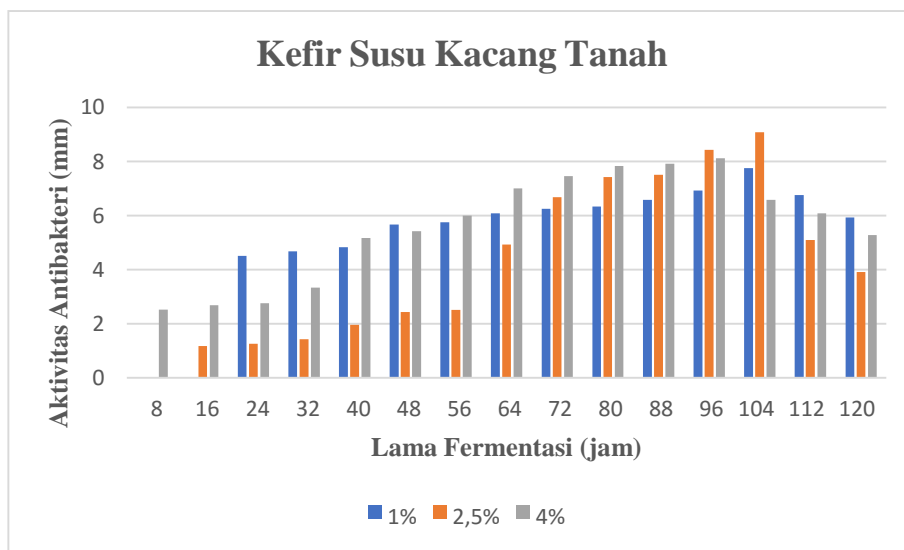
menyebabkan oksidasi membrane sel (Ray dan Bhunia. 2008)



Gambar 4. Zona Hambat Kelompok Kontrol dan salah satu contoh zone hambat sampel kefir uji



Gambar 5. Grafik aktivitas antibakteri kefir susu sapi



Gambar 6. Grafik aktivitas antibakteri kefir susu kacang tanah

Senyawa antibakteri lain yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat adalah bakteriosin. Target bakteriosin adalah membrane sitoplasma sel bakteri (Savadojo et al., 2006). Bakteriosin yang menempel pada membrane sel akan kehilangan proton seiring dengan gradient pH yang berubah pada membrane sel. Hal tersebut menyebabkan berkurangnya permeabilitas membrane dan kerusakan molekul-molekul yang berfungsi sebagai penyusun sintesis protein dalam sel (Diep et al., 2007). Aktivitas bakterisidal dari bakteriosin inilah yang menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan menghasilkan proses kematian pada sel yang sensitive terhadap bakteriosin (Vuyst dan Leroy, 2007; Simon et al., 2020).

Dapat dilihat pada Gambar 5 bahwa kefir susu sapi menghasilkan aktivitas antibakteri yang optimum pada konsentrasi biji kefir 1% adalah dengan lama fermentasi 72 jam, konsentrasi biji kefir 2,5% dengan lama fermentasi 104 jam, dan konsentrasi biji kefir 4% dengan lama fermentasi 88 jam. Sedangkan pada kefir susu kacang tanah yang ditunjukkan pada Gambar 6, aktivitas antibakteri optimum pada konsentrasi biji kefir 1% dan 2,5% adalah 104 jam, dan konsentrasi biji kefir 4% adalah 96 jam. Dari kedua gambar tersebut terlihat bahwa setelah terjadinya peningkatan aktivitas antibakteri terdapat penurunan aktivitas. Penurunan aktivitas antibakteri ini terjadi karena kasein mengalami presipitasi yang disebabkan karena pH yang menurun dan kasein mencapai titik isoelektriknya pada pH 4,6. Koagulasi kasein kemudian dikatalis dengan enzim kimosin (rennet) yang memotong ikatan dalam kasein, sehingga gugus kasein rusak. Data yang menunjukkan aktivitas antibakteri diuji statistic dengan SPSS dan didapatkan data terdistribusi normal tetapi tidak homogen, maka dilanjutkan dengan Uji Tamhane untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan

dengan lama fermentasi dan konsentrasi biji kefir yang berbeda terhadap kontrol negative. Hasil pengujian kefir susu sapi diperoleh bahwa aktivitas antibakteri beberapa kelompok menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($<0,05$) pada lama fermentasi 8-24 jam dengan konsentrasi biji kefir 1%, 8-16 jam dengan konsentrasi biji kefir 2,5%, dan 8 jam dengan konsentrasi biji kefir 4%. Hasil pengujian kefir susu kacang tanah terdapat beberapa kelompok yang memiliki perbedaan ($<0,05$) yaitu pada lama fermentasi 8 jam, 16 jam, dan 120 jam dengan konsentrasi biji kefir 1%, lama fermentasi 8 jam dengan konsentrasi biji kefir 2,5%, dan lama fermentasi 48 jam, 80 jam, serta 96 jam dengan konsentrasi biji kefir 4%. Kelompok yang lain menunjukkan signifikansi di atas 0,05 yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan.

Kelompok-kelompok kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah dibandingkan menggunakan Uji Kruskal-Wallis, dan diperoleh signifikansi 0,406 ($>0,05$) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara aktivitas antibakteri kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah.

KESIMPULAN

Organoleptis dari kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah memiliki warna, bau, rasa dan kekentalan yang sama dengan produk kefir komersial yang beredar di pasaran. Konsentrasi biji kefir dan waktu fermentasi pada kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri kefir susu sapi dan kefir susu kacang tanah dapat menghambat bakteri secara optimum pada lama fermentasi tertentu setiap konsentrasi. Lama fermentasi optimal yang dibutuhkan untuk menghasilkan

aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada kefir susu sapi dengan konsentrasi biji kefir 1% adalah dengan lama fermentasi 72 jam, konsentrasi biji kefir 2,5% dengan lama fermentasi 104 jam, dan konsentrasi biji kefir 4% dengan lama fermentasi 88 jam. Sedangkan pada kefir susu kacang tanah konsentrasi biji kefir 1% dan 2,5% dengan lama fermentasi 104 jam, dan konsentrasi 4% dengan lama fermentasi 96 jam..

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih atas terselenggaranya penelitian ini kepada Universitas Ahmad Dahlan.

DAFTAR PUSTAKA

- Albaari, A.N., dan Murti, T.W., 2003, Analisa pH, Keasaman dan Kadar Laktosa pada Yakult, Yoghurt, Kefir. Proceeding Simposium Nasional Hasil-hasil Penelitian di Unika Soegijapranata. Semarang 22 Maret 2003.
- Arqués, J.L., Mínguez, E.R., Langa, S., Landete, J.M., dan Medina, M., 2015, Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria in Dairy Products and Gut: Effect on Pathogens, *BioMed Research International*, (22):1-9
- Aryanta, I.W.R., 2021, Kefir Dan Manfaatnya Bagi Kesehatan, *E-Jurnal Widya Kesehatan*, 3(1):35-38
- Dewi, M.L., Rusdiana, T., Muchtaridi, dan Putriana, N.A., 2018, Artikel Tinjauan: Manfaat Kefir Untuk Kesehatan Kulit, *Farmaka*, 16(2):80-86
- Diastari, I.G.A.F., dan Agustina, K.K., 2013. Uji Organoleptik dan Tingkat Keasaman Susu Sapi Kemasan yang Dijual di Pasar Tradisional Kota Denpasar. ISSN 2301-7848. Universitas Udayana. Bali.
- Diep, D.B., Skaugen M., Salehian Z., Holo H., dan Nes, I.F., 2007, Common Mechanism of Target Cell Recognition and Immunity for Class II Bacteriocins, *PNAS The National Academy of Science of the USA*. 107(7):2384-2389.
- Fратиwi, Yulneriwarni, dan Noverita, 2008, Fermentasi Kefir Dari Susu Kacangkacangan, ISSN 1978-9513, *VIS VITALIS*, Vol.01, No.2, Jakarta.
- Ghozali, I., 2011, Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program IBM SPSS 19, Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang.
- Khan W.A., Griffiths J.K., Bennish M.L., 2013, Gastrointestinal and extra-intestinal manifestations of childhood shigellosis in a region where all four species of *Shigella* are endemic, *PLoS One*, 2013;8(5):e64097
- Kinteki G.A., Rizqiati H., dan Hintono A., 2018, Pengaruh Lama Fermentasi Kefir Susu Kambing Terhadap Mutu Hedonik, Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Total Khamir, dan pH, *Jurnal Teknologi Pangan* 3(1):42-50.
- McCrickard, L.S., Crim, S.M., Kim, S., and Bowen, A., 2018, Disparities in severe shigellosis among adults - Foodborne diseases active surveillance network, 2002-2014, *BMC Public Health*, 18(1):221
- Oberman, H. 1985. Fermented Milk. In: *Microbiology of Fermented Food*. Elsevier Applied Science Publishers Ltd. London.
- Ouwehand, A. C. dan Vesterlund, S. 2004. Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. In *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Ed Saiminen, F. A, Von Wright, Ouwehand, A. C, Marcel Dekkes. New York. 375-395.
- Pratiwi, S.T, 2008, *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Rahayu, E., Lahay, N., dan Jamilah, 2021, Antibacterial Inhibition Test Against the Combination Extract of Moringa Leaf (*Moringa oliefera*) and Basil Leaf (*Ocimum basilicum*) as a Substitute for Feed Additive, *Hasanuddin Journal of Animal Sciece*, 3(2):85-94
- Ray, B. dan Bhunia, A. 2008, *Fundamental of Food Microbiology* Fourth ed. CRC Press London, New York.
- Savadogo, A., Ouattara, C.A.T, Bassole, I.H.N, Traore, S.A, 2006. Bacteriocin and Lactic Acid Bacteria, *African Journal of Biotechnology*. 5(9):678-683.
- Simons A., Alhanout K., and Duval R.E., 2020, Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria, *Microorganisms*, 8(5): 639.
- Tacke, R., Josh S., Uchiyama, S., Polovina, A., Nguyen, D.G., dan Nizet, V., 2019, Protection Against Lethal Multidrug-Resistant Bacterial Infections Using Macrophage Cell Therapy, *Infectious Microbes & Diseases*, 1(2): 61-69
- Usmiati, S. 2007. Kefir, Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapane Pertanian* Vol.29, No.2, 2007. Bogor.
- Wijaningsih, W. 2008. Aktivitas Antibakteri In Vitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau

(*Vigna Radiata*) Oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermentasi. Tesis, Program Pasca Sarjana UNDIP. Semarang.

Vuyst, L.D, dan Leroy, F., 2007. Bacteriosins From Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Application. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*.

ARTIKEL

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% DAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN PEPAYA

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 96% ETHANOL EXTRACT AND PAPAYA LEAF ETIL ACETATE FRACTION

Drian Aulia Arif Wicaksono¹, Any Guntarti^{1*}, Mustofa Ahda¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

Papaya is a tropical plant widely used in Indonesian region. It is also commonly used as a traditional medicine. Papaya leaves is known to have high antioxidant activity. Papaya leaves is reportedly containing flavonoid and phenol compounds which is responsible for its antioxidant activity. The objective of this study was to determine the antioxidant activity in *Carica Papaya* leaves using DPPH method. This study also compares the antioxidant activity from different solvent used to extract *Carica papaya* leaves. Dried Papaya leaves powder were extracted with maceration method using ethanol 96% solution. The extracts were filtered, collected in porcelain cup and then evaporated using water bath. Crude extract from water bath were partitioned with ethyl acetate and water solution to obtain ethyl acetate fraction. Ethyl acetate fraction were also evaporated through water bath to obtain crude extract. Yield from ethanol 96% solution and ethyl acetate fraction were counted. The yield was found to be 14.889% and 21.1197% respectively. The crude extract was screened for their flavonoid, polyphenol content and further assessed for their antioxidant activity using various qualitative and quantitative analysis. Antioxidant activity and their potential for scavenging free radical was measured with DPPH method and their potential was expressed with ES50. ES50 results of Quercetin, ethanol extract and ethyl acetate fraction were 6.133 $\mu\text{g/ml} \pm 0,234$, 54.137 $\mu\text{g/ml} \pm 4,38$ and 62.76 $\mu\text{g/ml} \pm 6,372$ respectively. Results were then analyzed with SPSS statistic software using ANOVA test and then followed with post-hoc Tukey test. There is significance difference from Quercetin positive control group compared with both extract sample. Both sample were also analyzed with statistic test to find if there are significant difference between both sample. Post-hoc Tukey test showed that there are significant difference between both ethanol 96% group and ethyl acetate fraction group. In conclusion, all of the sample showed positive flavonoid and phenolic content. Both extract solution also showed strong antioxidant activity measured with DPPH method.

Keywords: DPPH, Antioxidant, *Carica papaya*, Papaya, Flavonoid

ABSTRAK

Pepaya merupakan tumbuhan tropis yang umum ditemukan di wilayah Indonesia. Daun pepaya diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid diteliti memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat daun pepaya. Daun pepaya yang diserbuk, dimaserasi dengan etanol 96%, diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental difraksinasi dengan etil asetat hingga didapat ekstrak kental fraksi etil asetat. Uji kualitatif meliputi uji senyawa flavonoid dan polifenol. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Hasil ES50 kuersetin diperoleh 6.1336 $\mu\text{g/ml} \pm 0,234$, ekstrak etanol daun pepaya 54.137 $\mu\text{g/ml} \pm 4,38$ dan fraksi etil asetat adalah 62.76 $\mu\text{g/ml} \pm 6,372$. Semakin kecil nilai ES50 maka semakin besar kemampuan aktivitas penangkapan radikal bebas. Aktivitas penangkapan radikal bebas paling besar adalah kuersetin, diikuti dengan ekstrak etanol dan paling rendah adalah fraksi etil asetat. Analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara sampel ekstrak etanol dengan sampel fraksi etil asetat. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun pepaya memiliki kandungan polifenol dan flavonoid. Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai ES50 menunjukkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat memiliki potensi yang kuat.

Kata kunci: DPPH, Antioksidan, *Carica papaya*, Pepaya, Flavonoid

PENDAHULUAN

Tanaman pepaya adalah salah satu tanaman obat yang dapat digunakan dalam pengobatan. Bagian tanaman pepaya, seperti akar, kulit, biji, buah dan daunnya memiliki kandungan yang dapat digunakan sebagai obat-obatan (Gallean dkk., 2010). Pepaya dapat digunakan sebagai tanaman obat dikarenakan pepaya memiliki banyak kandungan vitamin A, B, C, dan enzim proteolitik seperti papain dan chymopapain (Ironi dkk., 2013). Senyawa tersebut memiliki fungsi sebagai antiviral, antifungal, dan antibakteri (Vij dkk., 2014). Selain itu senyawa metabolit sekunder yang memiliki gugus fenolik dilaporkan memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Pierton dkk., (2012) menyampaikan bahwa senyawa flavonoid dan proanthocyanidin memiliki aktivitas antioksidan yang bermanfaat untuk kesehatan. Beberapa tanaman herbal yang mengandung flavonoid juga dapat digunakan sebagai anti-kanker (Vuong dkk., 2013), anti-bakteri (Peter dkk., 2014), anti-oksidan dan anti-inflamasi (Owoleye dkk., 2008).

Daun pepaya memiliki senyawa metabolit sekunder seperti kaempferol, asam kumarik, kuersetin, dimetoksikumarin (Canini dkk., 2006). Oleh karena itu daun pepaya memiliki aktivitas antioksidan, anti-bakteri, anti-inflamasi, anti-kanker. Hasil penelitian oleh Mulyono (2013) ekstrak etanol daun pepaya memiliki sifat antioksidan terhadap DPPH, daun pepaya memiliki kandungan total fenol dan flavonoid berturut-turut sebesar 9,43mgGAE/g dan 17,07mgCE/g. Kekuatan antioksidan ekstrak etanol daun pepaya terhadap DPPH yang dinyatakan dalam *Trolox Equivalent* (TE) yaitu 67,38 µgTE/g. Jumlah tersebut hampir sama dengan aktivitas antioksidan pada Vitamin E (Vuong dkk., 2013). Penelitian oleh Visioli dkk., (2011) terdapat

korelasi antara senyawa polifenol dengan aktivitas antioksidan melalui mekanisme reaksi berantai peroksidasi lipid. Polifenol bekerja dengan cara mendonorkan elektron kepada senyawa radikal bebas, sehingga menetralkan reaksi kimia yang dapat merusak sel (Maisarah dkk., 2013). Penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dibawah ekstrak air karena ekstraksi dengan pelarut air menghasilkan senyawa polifenol yang lebih besar (Vuong dkk., 2013).

Penelitian ini akan membandingkan ekstrak etanol daun pepaya dan fraksi etil asetat meliputi kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan terhadap DPPH. Proses fraksinasi dapat mengeliminasi pengotor dan memaksimalkan senyawa aktif.

METODE PENELITIAN

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pepaya lokal (*Carica papaya* L.) yang diperoleh di Pasar Lempuyangan, Yogyakarta. Berdasarkan keterangan penjual, daun pepaya merupakan spesies lokal dan didapatkan di daerah Banguntapan, Bantul, Yogyakarta.

Determinasi tanaman perlu dilakukan untuk memastikan nama dan genus tanaman yang digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta mengacu pada buku *Flora of Java* (Backer, 1965).

Bahan

Aquades, etanol p.a, etanol 96%. natrium karbonat (Na_2CO_3), larutan amonia p.a (E-Merck), pereaksi Folin-ciocalteau, 1-1 difenil-2-pikrilhidrasil (DPPH), kuersetin (Sigma Alderich), asam galat (Sigma Aldrich).

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman

Daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang akan digunakan dalam penelitian diidentifikasi dengan mengacu pada buku *Materia Medika* di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.

Ekstraksi Daun Pepaya

Daun pepaya dipilih yang masih utuh, tidak rusak, tidak busuk, kemudian dicuci hingga bersih. Selanjutnya dikeringkan, dihomogen. Serbuk daun pepaya ditimbang sebanyak 250 gram, dimaserasi dengan air sebanyak 1 L menggunakan pengaduk elektrik, maserasi dilakukan selama 3 jam pada suhu kamar, kemudian didiamkan selama 48 jam. Setelah itu disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat yang ada dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* yang kemudian diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Vuong dkk (2013) bahwa ekstrak air memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibanding ekstrak air karena ekstraksi dengan pelarut air menghasilkan senyawa polifenol yang lebih besar.

Fraksinasi

Ekstrak kental yang telah diperoleh dari ekstraksi dilarutkan dalam etanol hingga larut, kemudian ditambahkan etil asetat. Setelah itu, ditambahkan air dengan perbandingan 1 : 1 sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan etil asetat dan lapisan etanol-air. Lapisan etil asetat kemudian diambil, ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat dengan perbandingan 0,2 : 10, digojok dan didiamkan selama 6 jam baru kemudian disaring. Hasil penyaringan diuapkan dengan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental fraksi etil asetat (Elgadir & Mohamed. 2014).

Uji Kualitatif

Senyawa Alkaloid

Sebanyak 4 g daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang telah dihaluskan ditambahkan kloroform secukupnya lalu dihaluskan lagi. Selanjutnya ditambah 10 ml amoniak dan 10 ml kloroform. Larutan disaring ke dalam tabung reaksi, filtrat ditambahkan asam sulfat 2N sebanyak 10 tetes. Filtrat dikocok dengan teratur kemudian dibiarkan beberapa lama sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi. Ketiga larutan ini dianalisis dengan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid. Reaksi dengan pereaksi Mayer akan terbentuk endapan putih, dengan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah jingga dan dengan pereaksi wagner terbentuk endapan merah kecoklatan (A'yun dkk, 2015).

Senyawa Flavonoid

Sebanyak 200 mg daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang telah dihaluskan, ditambahkan dengan 5 ml etanol dan dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah beberapa tetes HCl 2N pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit. (A'yun dkk, 2015).

Penetapan aktivitas Antioksidan (DPPH)

- Pembuatan Sampel: Stok sampel dibuat dengan menimbang 50 mg ekstrak kental kemudian ditambahkan 50ml etanol p.a. Dari larutan stok sampel kemudian dibuat variasi konsentrasi sebesar 50 µg/ml ; 60 µg/ml ; 70 µg/ml ; 80 µg/ml ; 90 µg/ml dengan pengenceran menggunakan etanol p.a

- b. Pembuatan Larutan Kontrol Positif: Larutan kuersetin 1 mg/ml dibuat dengan melarutkan 10,0 mg serbuk kuersetin dalam 10,0 ml metanol p.a. Kemudian dari larutan tersebut dibuat seri larutan dengan berbagai seri konsentrasi 5 µg/ml; 6 µg/ml; 7 µg/ml; 8 µg/ml; dan 9 µg/ml dengan pengenceran menggunakan etanol p.a
- c. Penentuan Operating time: Masing-masing kontrol positif, sampel ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ditambahkan dengan 1 ml larutan DPPH 0,3 mM, kemudian diamati absorbansinya selama 90 menit pada panjang gelombang 517 nm.
- d. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum: Sebanyak 1 ml larutan DPPH 0,3 mM ditambahkan 4 ml etanol p.a, digojok homogen dan diamati serapannya pada rentang panjang gelombang 400-800nm sesuai dengan operating time. Kuersetin, sampel ekstrak etanol dan fraksi etil asetat juga diamati serapannya.
- e. Pengujian aktivitas antioksidan: Ekstrak etanol, fraksi etil asetat pepaya dengan konsentrasi sebesar sebesar 50 µg/ml; 60 µg/ml; 70 µg/ml; 80 µg/ml; dan 90 µg/ml ditambahkan 1,0 ml DPPH 0,3 mM dalam tabung reaksi kering. Digojok hingga homogen dan diinkubasi di tempat gelap sesuai operating time, kemudian diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimal dengan Spektrofotometer UV-Vis. Untuk kontrol negatif digunakan 4 ml etanol p.a yang ditambahkan 1,0 ml DPPH 0,3mm (Molyneux, 2003).

Analisis Data

Aktivitas penangkapan radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya

absorbansi larutan yang mengandung senyawa penangkap radikal bebas. Semakin besar persentase berkurangnya absorbansi, berarti semakin kuat kemampuan penghambatan radikal bebas. Persen aktivitas penangkapan radikal dapat dihitung dengan rumus :

$$\left[1 - \frac{\text{Absorbansi sampel pada } \lambda \text{ maks}}{\text{Absorbansi kontrol negatif pada } \lambda \text{ maks}} \right] \times 100\%$$

Kadar sebagai absis atau sumbu x, sedangkan persen aktivitas penangkapan radikal bebas sebagai ordinat atau sumbu y. Ditentukan nilai ES₅₀ yaitu konsentrasi sampel uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% dari persamaan regresi linear yang didapat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman termasuk dalam familia caricaeae dengan species *Carica papaya*, L. Hal ini untuk memastikan nama tanaman. (Pérez-Bonilla dkk., 2013). Hasil determinasi :

1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b - 26b - 27a - 28b - 29b - 30b - 31a - 32a - 33b - 35a - 36d - 37b - 38b - 39b - 41b - 42b - 44b - 45b - 46e - 50b - 51b - 53b - 54b - 56b - 58b - 59d - 72b - 73b - 74a - 75b - 76a - 77b - 103c - 104b - 106b - 108b - 109b - 134a - 135b - 136b - 137a - 138c - 139b - 140a - 141b - 142b - 143b - 147b - 156b - 157a - 158b - 160b - 162a
Caricaceae

Ekstraksi dan fraksinasi Simplisia

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi merupakan metode yang sederhana baik dari alat maupun langkah kerja. Selain itu maserasi tidak memerlukan pemanasan yang dapat merusak zat

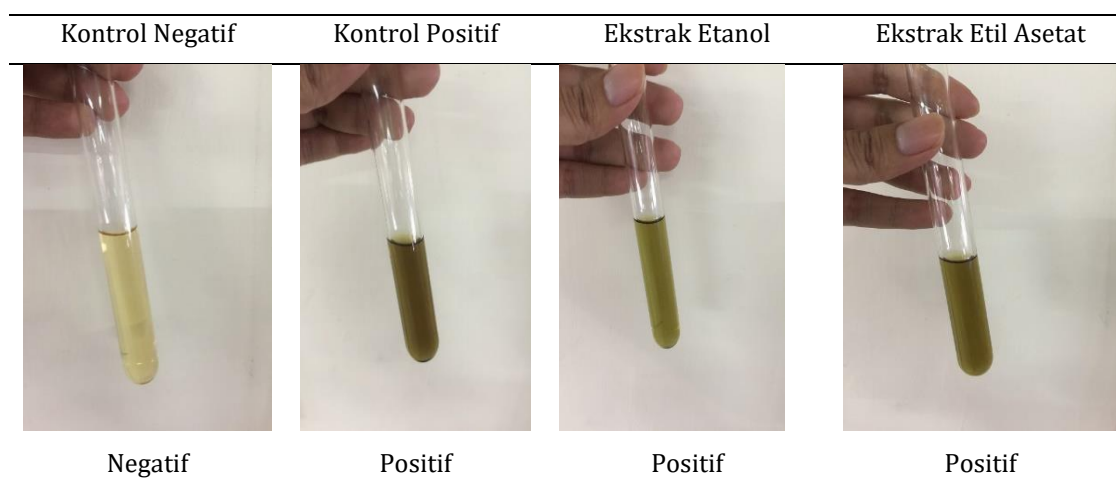
aktif yang terkandung dalam simplisia. Hasil rendemen sebesar 18,610%. Selanjutnya dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi etil asetat.

Uji Pendahuluan Kualitatif

Analisis kualitatif yang dilakukan meliputi uji kandungan senyawa flavonoid, senyawa polifenol dengan menggunakan uji tabung dan kromatografi kertas. Uji kandungan senyawa polifenol dilakukan dengan mereaksikan pereaksi FeCl_3 dengan sampel (Rajurkar & Gaikwad, 2012). Kontrol positif yang digunakan adalah Kuercetin. Uji kandungan senyawa polifenol disajikan pada gambar berikut Gambar 1.

Pada Uji kualitatif polifenol, sampel direaksikan dengan FeCl_3 apabila terbentuk warna

hijau kehitaman, maka positif terdapat senyawa fenol (Adam dkk, 2013). Pada Tabel 1, kontrol positif kuercetin memiliki warna hijau kehitaman. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat juga berwarna hijau agak kehitaman setelah direaksikan dengan FeCl_3 sehingga ekstrak etanol dan fraksi etil asetat positif memiliki senyawa polifenol. Mekanisme reaksi uji FeCl_3 adalah senyawa fenol yang dapat membentuk kompleks dengan ion Fe. Kompleks yang terbentuk memiliki intensitas warna yang bervariasi seperti biru, hijau dan merah. Intensitas warna tergantung kepada sifat fenol yang membentuk kompleks (Vuong dkk., 2013)



Gambar 1. Uji Kualitatif Polifenol

Uji kandungan senyawa flavonoid dilakukan dengan menguapi sampel yang telah diteteskan pada kertas saring dengan uap ammonia. Timbulnya warna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Warna kuning tersebut disebabkan adanya pembentukan struktur kuinoid pada cincin yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi panjang (Robinson, 1995). Hasil uji

flavonoid disajikan pada Gambar 2, dan reaksi antara flavonoid dengan ammonia pada Gambar 1.

Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH

Ekstrak kental Daun pepaya (*Carica papaya* L.) dalam bentuk ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetatnya yang akan digunakan dalam uji aktivitas penangkapan radikal bebas. Kontrol

positif yang digunakan adalah Kuersetin karena terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan adanya gugus OH.

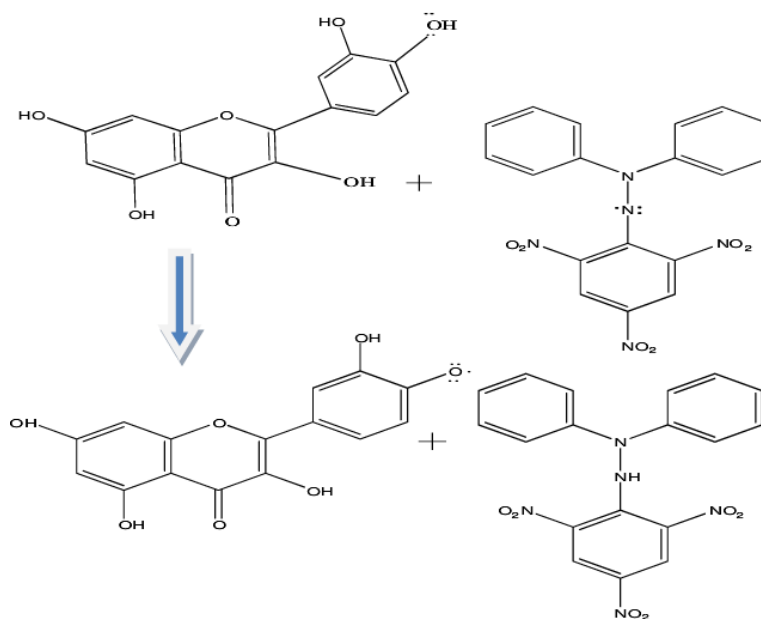


Gambar 2. Hasil reaksi Flavonoid dengan Ammonia

Aktivitas penangkapan radikal bebas dilihat dengan berkurangnya intensitas warna ungu oleh larutan DPPH. Pengurangan intensitas ini disebabkan oleh adanya reaksi DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh komponen sampel sehingga terbentuk senyawa DPP Hidrazin yang berwarna kuning stabil. Flavonoid yang kehilangan atom H akan menjadi radikal bebas baru yang stabil dan tidak reaktif karena adanya efek resonansi inti aromatik. Berkurangnya intensitas warna ungu dari DPPH merupakan bukti

adanya potensi antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dalam menangkap radikal bebas dari senyawa DPPH (Gupta *dkk.*, 2012).

Semakin besar konsentrasi larutan bahan uji maka absorbansi yang dihasilkan akan semakin kecil karena semakin banyak molekul yang bereaksi dengan DPPH. Senyawa yang kemungkinan memiliki reaksi dengan DPPH adalah flavonoid. Kemudian reaksi penangkapan radikal bebas dapat kita lihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi penangkapan radikal bebas oleh kuersetin (Xu *dkk.*, 2019)

Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Hasil pengukuran penentuan waktu *operating time* untuk kuersetin 30 menit, fraksi etil asetat 38 menit dan etanol 33 menit. Hasil penentuan panjang gelombang serapan maksimum. Panjang gelombang serapan maksimum untuk kuersetin sebesar 515,50 nm.

DPPH sebesar 518nm. Ekstrak etanol sebesar 536,50 nm dan fraksi etil asetat sebesar 506 nm. Aktivitas penangkapan radikal bebas pada ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran nilai ES_{50} kontrol positif kuersetin, Ekstrak Etanol, dan Ekstrak Etil Asetat

Sampel	Harga ES_{50}	Kemampuan sebagai antioksidan
Ekstrak Kuersetin ($x \pm SD$) ($\mu\text{g/ml}$)	6,13 \pm 0,23	
CV (%)	3,80	Sangat kuat
Ekstrak Etanol ($x \pm SD$) ($\mu\text{g/ml}$)	54,14 \pm 4,38	
CV (%)	8,09	Kuat
Ekstrak Etil Asetat ($x \pm SD$) ($\mu\text{g/ml}$)	62,76 \pm 6,37	
CV (%)	10,15	Kuat

Nilai ES_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa menangkap radikal bebas DPPH, semakin kecil ES_{50} maka semakin besar kemampuan senyawa menangkap radikal bebas. Nilai ES_{50} kuersetin yang diperoleh adalah 6,133 $\mu\text{g/ml}$, ekstrak etanol daun pepaya 54,137 $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi etil asetat adalah 62,76 $\mu\text{g/ml}$. Nilai ES_{50}

fraksi etil asetat > ekstrak etanol > kuersetin sehingga kemampuan aktivitas penangkapan radikal bebas yang paling besar adalah kuersetin, diikuti dengan ekstrak etanol dan paling rendah adalah fraksi etil asetat.

Tabel 2. Analisis Statistik

Sampel yang dibandingkan	Signifikansi	Kesimpulan Analisis
Ekstrak Kuersetin dan Ekstrak Etanol	0.00 < 0.05	Berbeda signifikan
Ekstrak Kuersetin dan Ekstrak fraksi Etil Asetat	0.00 < 0.05	Berbeda signifikan
Ekstrak Etanol dan Ekstrak fraksi Etil Asetat	0.037 < 0.05	Berbeda signifikan

Data ES_{50} kemudian diuji dengan uji statistik distribusi normal dan homogenitas variannya dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji statistik *Anova diikuti dengan post-hoc Tukey Test* antara kuersetin dengan kelompok uji sampel

ekstrak etanol dan fraksi etil asetat menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan hasil uji menunjukkan signifikansi dibawah 0,05. Sedangkan untuk perbandingan antara 2 kelompok sampel, yaitu antara kelompok sampel

ekstrak etanol dan kelompok fraksi etil asetat diperoleh hasil signifikansi sebesar 0,037 lebih kecil dari 0,05. Maka dapat disimpulkan antara 2 kelompok sampel ada perbedaan yang signifikan. Hasil uji statistik disajikan dalam tabel 2.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa dalam ekstrak etano 96% dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas. Harga ES_{50} Kuersetin adalah $6.1336 \mu\text{g/ml} \pm 0,234$, ekstrak etanol daun pepaya $54,137 \mu\text{g/ml}$ dan fraksi etil asetat adalah $62,76 \mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam Y, Nasaruddinc A, Zurainia AK, Arifahd MS, Omar FZA, Zakariaa MN, Somchitaf. 2013. Diuretic Activity of Roots from *Carica papaya* L. and *Ananas comosus* L. *International Journal of Pharmaceutical Science Research*, 23(1), pp 163-167
- Ainun_Nikmati_Laily, Qurrota A. -. "Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) di Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi, Kendalpayak, Malang." *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam 2015, Surakarta, Indonesia, January 2015*. Universitas Sebelas Maret, 2015.
- Anonim, 1989, *Materia Medika*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Canini, A., Alesiani, D., D'Arcangelo, G., & Tagliatesta, P. (2007). Gas chromatography-mass spectrometry analysis of phenolic compounds from *Carica papaya* L. leaf. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7), 584-590.
- Elgadir, Mohamed. 2014. *Carica papaya* As A Source Of Natural Medicine And Its Utilization In Selected Pharmaceutical Applications. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 6, Issue 1
- Gupta, C., Pushpangadan, P., & Singh, K. K. (2012). Antioxidant and free radical scavenging activities of some promising wild edible fruits. *International Food Research Journal*, 19(3), 1109.
- Irondi, A. E., Anokam, K. K., & Ndidi, U. S. (2013). Effect of drying methods on the phytochemicals composition and antioxidant activities of *Carica papaya* seed. *International Journal of Biosciences*, 3(11), 154-163.
- Maisarah, A. M., Nurul Amira, B., Asmah, R., & Fauziah, O. (2013). Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*. *International Food Research Journal*, 20(3).
- Molyneux, P., 2004, The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219
- Mulyono. Meriyuki, Lienny., 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya. Surabaya
- Pérez-Bonilla, M., Salido, S., Sánchez, A., van Beek, T. A., & Altarejos, J. (2013). Effect of extraction conditions on the antioxidant activity of olive wood extracts. *International Journal of Food Science*, 2013.
- Peter, J. K., Kumar, Y., Pandey, P., & Masih, H. (2014). Antibacterial Activity of Seed and Leaf Extract of *Carica Papaya* var. Pusa dwarf Linn. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(2), 29-37.
- Pierton, J.T., Dietzgen, R.G., Shaw, P.N., Roberts-Thomson, S.J., Monteith, G.R. and Gidley, M.J. 2012. Major Australian tropical fruits biodiversity: bioactive compounds and their bioactivities. *Molecular Nutrition and Food Research* 56: 357-87.
- Rajurkar, N. S., & Gaikwad, K. (2012). Evaluation of phytochemicals, antioxidant activity and elemental content of *Adiantum capillus veneris* leaves. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 4(1), 365-374.
- Vij, T., & Prashar, Y. (2015). A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(1), 1-6
- Visioli F, De La Lastra C. A, Andres-Lacueva C, Aviram M, Calhau C, Cassano A, D'Archivio M, Faria A, Fave G, Fogliano V, Llorach R, Vitaglione P, Zoratti M, Edeas M. Polyphenols and human health: A prospectus. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2011;51(6):524-46.
- Vuong, Q. V., Hirun, S., Roach, P. D., Bowyer, M. C., Phillips, P. A., & Scarlett, C. J. (2013). Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 3(3), 104-111.