

Volume 12 No. 2 Agustus 2022

JURNAL KEFARMASIAN INDONESIA

p-ISSN 2085-675X
e-ISSN 2354-8770

Jurnal Kefarmasian Indonesia

The Indonesian Pharmaceutical Journal

Terakreditasi Kemenristek/BRIN SK Nomor 200/M/KPT/2020

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

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

Ketua Dewan Redaksi : apt. Dra. Ani Isnawati, M.Kes. (Ilmu Kefarmasian, Epidemiologi Klinik dan Manajemen Farmasi)

Anggota Dewan Redaksi :

1. apt. Maratu Soleha, M.Biotech. (Bioteknologi Farmasi dan Asuhan Kefarmasian)
2. apt. Nanang Yunarto, M.Si. (Teknologi Farmasi, Fitokimia, Obat Tradisional)
3. Novi Sulistyningrum, M.Si. (Kimia Bahan Alam dan Kimia Medisinal)
4. Arifayu Addiena Kurniatri, S.Si. (Kimia Analisis dan Obat Tradisional)
5. Indah Sulistyowati, S.Si. (Kimia Analisis)
6. Intan Sari Oktoberia, S.Si. (Kimia Analisis)
7. apt. Nurul Aini, S.Farm. (Kimia Farmasi dan Analisis)
8. Dra. Sukmayati Alegantina (Kimia Analisis dan Obat Tradisional)

Ketua Redaksi Pelaksana : Irwan Fazar Wibowo, S.Kom., M.A.P.

Anggota Redaksi Pelaksana

1. Marta Hadisyah Putra, S.Kom.
2. Uud Nourma Reswandar, S.Si

Mitra Bestari :

1. Prof. Dr. apt. Abdul Rahman, M.Si. (Kimia Farmasi dan Analisis Produk Halal)
2. Prof. Dr. apt. Berna Elya, M.Si. (Farmakognosi, Fitokimia dan Obat Bahan Alam)
3. Prof. Dr. apt. Heni Rachmawati, M.Si (Teknologi Farmasi, farmasetika, nanoteknologi)
4. Dr.rer.nat. apt. Adam Hermawan, M.Sc. (Kimia Farmasi, Bioteknologi dan *Drug Discovery*)
5. Dr.Sc. Arif Fadlan, M.Si (Kimia Medisinal, Sintesis Kimia Organik)
6. apt. Didik Setiawan, M.Sc., Ph.D. (Farmakoekonomi, Farmasi Klinik)
7. Dr. apt. Eko Aditya Rifai, M.Sc (Komputasi Biomedik, *Molecular Modelling*)
8. Dr. apt. Kurnia Sari Setio Putri, M.Farm. (Farmasetika dan Teknologi Farmasi)
9. Dr.rer.nat. apt. Nanang Fakhruddin, M.Sc. (Farmakognosi, Fitokimia dan Obat Bahan Alam)
10. Raden Arthur Ario Lelono, M.Sc., Ph.D. (Kimia Medisinal dan Kimia Bahan Alam)
11. Dr. Rizna Triana Dewi, M.Si. (Kimia Medisinal dan Kimia Bahan Alam)
12. Dr. apt. Sarmoko, M.Sc. (Farmakologi Molekular, Imunologi)
13. Dr. drh. Yulvian Sani, M.Sc. (Toksikologi, Farmakologi, dan Obat Tradisional)
14. apt. Dra. Lucie Widowati, M.Si. (Farmakologi dan Obat Tradisional)
15. apt. Drs. Max Joseph Herman, M.Kes. (Asuhan Kefarmasian dan Manajemen Farmasi)
16. apt. Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si. (Teknologi Farmasi dan Obat Tradisional)
17. apt. Dra. Retno Gitawati, M.S. (Farmakologi dan Farmasi Klinik)
18. apt. Dra. Rini Sasanti Handayani, M.Kes. (Asuhan Kefarmasian)
19. drh. Rita Marleta Dewi, M.Kes. (Farmakologi dan Toksikologi)

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

Alamat Redaksi

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

Articles

- Aktivitas Antiparkinson Ekstrak dan Fraksi Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) pada Tikus Putih Galur Sprague Dawley** **90-98**
Kiki Damayanti (1), Yance Anas (2), Windy Marlina (3), Talcha Nabila (4), Putri Irmawati (5)
- Isolasi dan Skrining Aktivitas Antibakteri Fungi Tanah Muara Desa Katialada Gorontalo Lokasi Satu terhadap *Staphylococcus aureus*** **99-108**
Wilda Nur Rohmatillah (1), Muhammad Zainul Arifin (2), Saeful Akhmad Tauladani (3), Gani Asri Muharam (4), Asia Asia (5), Dwi Koko Pratoko (6), Ari Satia Nugraha (7)
- Formulasi Sediaan Minuman Serbuk Fungsional Kombinasi Biji Jagung (*Zea mays* L.) dan Madu** **109-117**
Sheila Meitania Utami (1), Nurwulan Adi Ismaya (2), Tri Okta Ratnaningtyas (3), Nanang Yunarto (4)
- Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu untuk Mencegah Peningkatan pH Vagina setelah Ovariektomi Bilateral pada Tikus Wistar** **118-127**
I Wayan Sugiritama (1), I Gusti Nyoman Sri Wiryawan (2), Ni Made Linawati (3), Ida Ayu Ika Wahyuniari (4), I Gusti Ayu Dewi Ratnayanthi (5), I Gusti Nyoman Kamasan Arijana (6)
- Tingkat Pengetahuan Masyarakat tentang Obat Tradisional setelah Pemberian E-Booklet di Kabupaten Karimun.....** **128-136**
Ratna Sari Dewi (1), Putri Qurnia Pratiwi (2), Mira Febrina (3), Nesa Agistia (4)
- Pengaruh Variasi Media Pertumbuhan terhadap Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH Ekstrak Kapang Endofit Isolat Cb.D1** **137-144**
Ayu Purnamasari (1), Fitri Andriyaningsih (2), Riska Andriani Pamungkas (3), Eris Septiana (4)
- Determination of HPLC Chromatogram Profile of Katuk (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P.Balakr) Plants from Ristoja's Results using Chemometric Analysis**
Nanang Yunarto (1), Sukmayati Alegantina (2), Ani Isnawati (3) **145-154**
- Pengaruh Fraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus Diinduksi Parasetamol** **155-162**
Sitti Rahimah (1), Akbar Awaluddin (2), Nurzadrina Wahyuddin (3)
- Pengembangan Nutrasetikal Es Krim Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)** **163-169**
Takdir Ul Haq (1)



Aktivitas Antiparkinson Ekstrak dan Fraksi Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) pada Tikus Putih Galur Sprague Dawley

*Antiparkinson Activity of Cubeb (*Piper cubeba* L.) Fruit's Extract and Fraction on Sprague Dawley Rats*

Kiki Damayanti*, Yance Anas, Windy Marlina, Talcha Nabila, Putri Irmawati

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Indonesia

*E-mail: k.damayanti.s@gmail.com

Abstrak

Salah satu patofisiologi terjadinya penyakit parkinson adalah stres oksidatif. Stres oksidatif dapat diatasi dengan antioksidan yang diperoleh dari bahan alam, diantaranya buah kemukus (*Piper cubeba* L.). Metabolit sekunder yang diduga bersifat antioksidan adalah flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan flavonoid dan menguji aktivitas antiparkinson ekstrak etanol buah kemukus (EEBK), fraksi etil asetat ekstrak etanol buah kemukus (FEAEEBK), dan fraksi n-heksan ekstrak etanol buah kemukus (FNHEEBK) yang diperoleh secara fraksinasi bertingkat. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Tikus sebanyak 84 ekor dibagi menjadi 14 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok normal tanpa induksi haloperidol yang diberi akuades 12,5 mL/kgBB. Kelompok 2 dan 3 merupakan kontrol negatif yang berturut-turut diberi akuades dan minyak zaitun. Dua kelompok kontrol positif, yaitu kelompok 4 dan 5 berturut-turut diberi levodopa 27 mg/kgBB dan vitamin E 180 IU/kgBB. Kelompok 6 sampai 14 diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK masing-masing dengan dosis 150, 300, dan 600 mg/kgBB. Kelompok 2 hingga 14 diinduksi dengan haloperidol 2 mg/kgBB secara intraperitoneal 45 menit setelah pemberian bahan uji. Semua kelompok diuji ketahanannya berjalan di atas rotarod pada hari ke 0, 4, 7, 11, 14. Kurva dibuat berdasarkan data waktu bertahan tikus di atas rotarod terhadap waktu, lalu dihitung AUC₀₋₁₄-nya dengan metode trapezoid. Data AUC₀₋₁₄ dianalisis statistik Mann Whitney 95%CI. Keberadaan flavonoid dalam bahan uji dianalisis dengan kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK mengandung flavonoid, serta EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK mempunyai aktivitas antiparkinson, kecuali FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB.

Abstract

Pathophysiologicals underlying the Parkinson's disease is oxidative stress, can be treat with antioxidants from natural sources, including *Piper cubeba* L. Flavonoids are reported as antioxidants. This study aimed to analyse the flavonoids content and antiparkinson activity from the ethanolic extract of cubeb fruits (EECF), ethyl acetate fraction of ethanolic extract of cubeb fruits (EAEFEECF), n-hexane fraction of ethanolic extract of cubeb fruits (NHFEECF). This research is an experimental study with a post test only control group design. Eighty four rats were divided into 14 groups. Group 1 is a normal group, group 2-3 are negative controls which were given aquadest and olive oil, respectively. Positive control groups, 4 and 5 were given levodopa 27 mg/kgBW and vitamin E 180 IU/kgBW, respectively. Group 6-14 were given EECF, EAEFEECF, and NHFEECF at doses 150, 300, 600 mg/kgBW. Group 2-14 were induced with haloperidol 2 mg/kgBW intraperitoneally 45 minutes after administration of the material tests. The materials are given once a day for 7 days. The length of time the rats can hold on to the rotarod was tested on days 0, 4, 7, 11, 14. The curve showed the data on the survival time of rats on a rotarod versus time, then the AUC₀₋₁₄ was calculated using the trapezoidal method. The AUC₀₋₁₄ were analyzed using Mann Whitney test at 95%CI. The flavonoids content were analysed using TLC. The results showed that the EECF, EAEFEECF, and NHFEECF contained flavonoids, and antiparkinson activity except for the NHFEECF at doses 150 and 600 mg/kgBW.

Kata kunci:

Ekstrak etanol buah kemukus (*Piper cubeba* L.); Fraksi etil asetat; Fraksi n-heksan; Antiparkinson; Flavonoid

Keywords:

Ethanolic extract of cubeb fruits (*Piper cubeba* L.); Ethyl acetate fraction; n-Hexane fraction; Antiparkinson; Flavonoid

Received:

04-05-2022

Revised:

05-07-2022

Accepted:

09-08-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(2):90-98

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.5964>

PENDAHULUAN

Penyakit Parkinson merupakan penyakit neurodegeneratif yang mengakibatkan munculnya gejala seperti kekakuan, tremor, bradikinesia, kesulitan berjalan, dan ketidakseimbangan.¹ Salah satu mekanisme patologi yang sangat penting dalam penyakit Parkinson adalah disfungsi mitokondria.² Disfungsi mitokondria merupakan gangguan akibat stres oksidatif dan neuroinflamasi.³ Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan, yaitu jumlah *reactive oxygen and nitrogen species* (RONS) sangat tinggi, sehingga tidak dapat tertangani oleh antioksidan endogen seperti *manganase superoxide dismutase* dan *glutathione*.⁴ Disfungsi mitokondria yang disebabkan oleh RONS dapat mempercepat kerusakan serta kematian sel dopaminergik.⁵ Terapi menggunakan senyawa yang dapat memperbaiki fungsi mitokondria atau senyawa yang mampu meningkatkan kemampuan antioksidan endogen dapat bermanfaat untuk penyakit neurodegeneratif.⁶

Hingga saat ini belum ada terapi yang bersifat menyembuhkan penyakit Parkinson.⁷ Terapi penyakit Parkinson yang dilakukan diharapkan dapat memperlambat progresivitas penyakit.⁸ Tujuan dilakukannya terapi pada penyakit Parkinson adalah memperbaiki gejala motorik dan non motorik, sehingga pasien dapat mempertahankan kualitas hidupnya.⁹ Selama ini, levodopa merupakan obat yang paling sering digunakan dalam terapi penyakit Parkinson.¹⁰ Levodopa merupakan prekursor dopamin yang efektif dalam mengontrol gejala dan menghambat progresivitas penyakit Parkinson.¹¹

Tanaman merupakan sumber antioksidan alami. Metabolit sekunder berupa flavonoid dapat beraktivitas sebagai antioksidan, sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengobati penyakit yang berkaitan dengan radikal bebas seperti kanker, diabetes, dan penyakit neurodegeneratif.¹² Penelitian Jung dan Kim¹³ menyatakan flavonoid berpotensi memperbaiki dan

mencegah penyakit Parkinson dengan mengendalikan beberapa respon fisiologis yang berkaitan dengan efek neuroprotektif seperti peningkatan antioksidan.

Tanaman kemukus (*Piper cubeba* L.) merupakan tanaman yang telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional di Indonesia, khususnya di pulau Jawa.¹⁴ Ekstrak buah kemukus juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Aktivitas ini diduga berhubungan dengan kandungan polifenolnya.¹⁵ Khalaf dkk.,¹⁶ melakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan buah kemukus. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah kemukus memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai *inhibition concentration* 50 (IC₅₀) yang mendekati asam askorbat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkonfirmasi keberadaan flavonoid dan membuktikan aktivitas EEBK, FEAEKBK, dan FNHEEBK sebagai antiparkinson pada tikus galur Sprague Dawley.

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, corong pisah (Pyrex), *rotary evaporator* (Heidolph), bejana Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Camag), lampu UV 254 dan 365 nm (Camag), rotarod (PT. Alfa Mas Sakti), dan alat-alat gelas.

Tanaman yang digunakan adalah buah kemukus yang diperoleh dari petani kemukus di desa Kemejing, kecamatan Loano, kabupaten Purworejo. Tanaman kemukus yang digunakan telah dideterminasi di Laboratorium Sistemika Tumbuhan. Kebenaran tanaman kemukus yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan dengan dikeluarkannya surat keterangan bernomor 01410968/S.Tb/XI/2021.

Pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi dan fraksinasi adalah etanol 70%, etil asetat, dan n-heksan. Semua pelarut yang digunakan merupakan pelarut berkualitas teknis yang diperoleh dari PT.

Multi Kimia Raya. Fase gerak untuk KLT berupa campuran etil asetat (Merck), asam formiat (Merck), dan akuabidestilata (PT. Ikapharmindo Putramas). Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄ (Merck). Uap amonia digunakan sebagai penampak bercak (Merck). Kuersetin (PT. Sigma-Aldrich) merupakan pembanding flavonoid pada pengujian menggunakan KLT.

Tikus putih jantan galur Sprague Dawley diperoleh dari Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada. Tikus yang digunakan berumur 2–3 bulan dengan berat badan 200–250 gr. Tikus tersebut telah dikonfirmasi kebenarannya melalui proses determinasi oleh Laboratorium Sistematika Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada (surat keterangan nomor BI/SH/35/X/2021). Prosedur pelaksanaan pengujian telah memenuhi persyaratan etik penggunaan hewan uji oleh komisi bioetik Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang (*Ethical Clearance* No 155/V/2021/Komisi Bioetik).

Bahan yang digunakan untuk pengujian antiparkinson adalah haloperidol (Lodomer[®] injeksi dari PT. Roche), CMC-Na dan gom arab (PT. Brataco), levodopa (Madopar[®] dispersible tablet dari PT. Roche), vitamin E (Natur-E[®] dari PT. Darya-Varia), minyak zaitun (PT. Rafael Salgado), NaCl 0,9% (PT. Widatra Bhakti), dan akuades.

Pembuatan EEDP, FEAEEDP, dan FNHEEDP

Buah kemukus dikeringkan dengan oven pada suhu 55°C hingga kadar airnya kurang dari 10%. Simplisia buah kemukus selanjutnya diserbuk. Serbuk simplisia buah kemukus dibuat ekstrak dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Maserat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh dilakukan fraksinasi bertingkat menggunakan etil asetat dan n-heksan. Fase etil asetat dan n-heksan yang didapat

diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55°C.

Uji kualitatif flavonoid

Keberadaan flavonoid dikonfirmasi melalui KLT. Fase gerak berupa campuran etil asetat, asam formiat, dan air dengan perbandingan 10:2:3 disiapkan sebanyak 22,5 ml, dimasukkan dalam bejana, lalu dilakukan penjenjuran. Ketiga bahan uji yaitu EEBK, FEAEEBK, FNHEEBK masing-masing sebanyak 0,5 g dilarutkan ke dalam 2 mL etanol, lalu ditotolkan pada plat silika gel 60 F₂₅₄. Kuersetin dilarutkan dalam etanol, kemudian ditotolkan pada plat silika gel 60 F₂₅₄. Plat yang sudah ditotol kemudian dielusi dalam bejana yang telah jenuh dengan fase gerak. Setelah fase gerak sudah mencapai batas elusi, plat silika gel 60 F₂₅₄ dikeringkan. Plat silika gel 60 F₂₅₄ selanjutnya dikenai uap amonia, dan dilakukan pengamatan bercak di bawah sinar UV 254 dan 366 nm.

Uji aktivitas antiparkinson

Semua tikus diadaptasi di lingkungan laboratorium selama 1 minggu, dan dilatih berjalan di atas rotarod hingga mahir. Latihan dilakukan setiap hari selama setengah jam. Tikus yang sudah mahir berjalan di atas rotarod diuji kemampuan bertahan di atas rotarod. Lama bertahan tikus di atas rotarod menjadi dasar lamanya waktu pengujian pada fase uji.

Tikus sebanyak 84 ekor dibagi menjadi 14 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok normal tanpa induksi haloperidol yang diberi akuades 12,5 mL/kgBB. Kelompok 2 dan 3 merupakan kontrol negatif yang berturut-turut diberi akuades dan minyak zaitun 12,5 mL/kgBB. Dua kelompok kontrol positif yaitu kelompok 4 dan 5 berturut-turut diberi levodopa 27 mg/kgBB dan vitamin E 180 IU/kgBB. Kelompok 6 sampai 14 diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK dengan dosis pada masing-masing bahan uji sebesar 150, 300, dan 600 mg/kgBB.

Semua hewan uji sesuai kelompoknya diberikan perlakuan 1 kali sehari selama 7 hari secara per oral. Empat puluh lima menit

kemudian diberikan haloperidol 2 mg/kgBB secara intraperitoneal kecuali tikus kelompok 1. Haloperidol diberikan dengan frekuensi satu kali sehari, selama 7 hari berturut-turut.¹⁷ Segera setelah pemberian haloperidol, tikus pada masing-masing kelompok diuji menggunakan alat rotarod selama waktu yang diperoleh pada fase latihan di hari ke 0, 4, 7, 11 dan 14, kemudian dilakukan pencatatan waktu bertahan tikus di atas rotarod tersebut. Prosedur pelaksanaan uji aktivitas antiparkinson ini mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Ardhianta dkk.¹⁷ dengan sedikit modifikasi. Penelitian yang dilakukan oleh Ardhianta dkk.¹⁷ menetapkan lamanya pengujian tikus di atas rotarod adalah 300 detik, sedangkan pada penelitian ini lamanya pengujian tikus di atas rotarod ditetapkan berdasarkan lamanya waktu bertahan tikus di atas rotarod selama fase latihan.

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antiparkinson adalah lama bertahan tikus di atas rotarod pada hari ke 0, 4, 7, 11, dan 14. Kurva dibuat dengan menghubungkan hari pengujian sebagai sumbu x dan lama tikus bertahan di atas rotarod sebagai sumbu y. Area di bawah kurva atau *area under curve* (AUC_{0-14}) dihitung dengan metode trapezoid. Rumus perhitungan AUC_{0-14} yaitu:

$$AUC_{0-14} = \frac{Kn_1 + Kn_2}{2} \times (t_2 - t_1)$$

Kn: lama bertahan tikus di atas rotarod pada hari ke n

t : hari pengujian ke-n

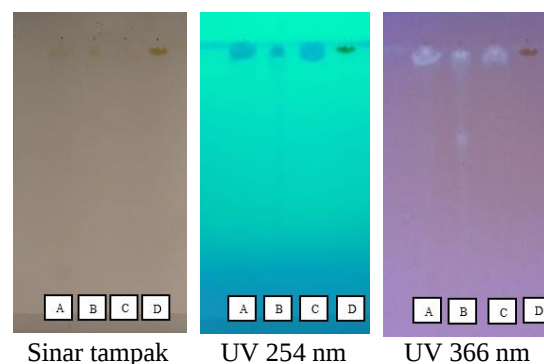
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif flavonoid

Konfirmasi keberadaan flavonoid dalam EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK dengan KLT menunjukkan bahwa semua bahan uji tersebut mengandung flavonoid. Hal ini terlihat dengan munculnya warna kuning kecoklatan setelah plat silika gel 60 F₂₅₄ dikenai uap amonia. Paparan sinar UV 254 dan 366 nm membantu memperjelas

bercak yang terpisah dari EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK (Gambar 1).

Keberadaan flavonoid dalam EEBK juga ditemui pada penelitian lain. AlSaid dkk.¹⁸ dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa ekstrak etanol buah kemukus yang dibuat dengan metode perkolasi mengandung flavonoid.



Gambar 1. Hasil KLT setelah penguapan amonia (A) EEBK (B) FEAEEBK (C) FNHEEBK (D) kuersetin dengan fase gerak etil asetat : asam formiat : air (10:2:3) pada sinar tampak, UV 254 nm, dan UV 366 nm

Uji aktivitas antiparkinson

Penggunaan model hewan uji, yaitu tikus putih jantan galur Sprague Dawley mengacu pada penelitian yang dilakukan Ardhianta dkk.¹⁷ Pertimbangan lain pemilihan jenis kelamin galur tikus didasarkan pada kelaziman spesifikasi hewan uji yang digunakan untuk penelitian aktivitas antiparkinson yang diungkapkan oleh Waku dkk.¹⁹ dan ketersediaannya.

Tikus dibuat mengalami gejala penyakit Parkinson dengan cara diinduksi dengan haloperidol secara intraperitoneal. Pemberian haloperidol menyebabkan penghambatan reseptor dopamin D₂, sehingga timbul gejala penyakit Parkinson. Gejala yang ditimbulkan berupa rigiditas otot dalam waktu 60 menit setelah pemberian haloperidol sebanyak 5 mg/kgBB secara injeksi intraperitoneal.²⁰

Tikus dengan kemampuan motorik yang baik dapat bertahan di atas rotarod lebih lama dibandingkan tikus yang dibuat mengalami penyakit Parkinson dengan pemberian haloperidol. Semakin baik kemampuan motorik tikus, maka waktu

bertahan tikus akan semakin lama. Data lama waktu bertahan tikus yang diperoleh dan hari pengukuran digunakan untuk menghitung AUC_{0-14} . Semakin baik kemampuan motorik tikus, maka waktu bertahan di atas rotarod makin lama dan nilai AUC_{0-14} -nya semakin besar. Secara teoritis, tikus yang diberikan senyawa yang dapat meningkatkan kemampuan motorik akan menghasilkan nilai AUC_{0-14} yang lebih besar dibandingkan tikus kontrol negatif.

Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol sehat yaitu tikus tidak diinduksi haloperidol dan diberi akuades 12,5 mL/kgBB. Pemberian akuades secara per oral pada kelompok kontrol sehat dimaksudkan untuk menyamakan perlakuan kelompok kontrol sehat dengan kelompok yang lain. Terjadinya gejala penyakit Parkinson pada tikus dalam penelitian ini ditunjukkan dengan lebih kecilnya AUC_{0-14} secara bermakna pada kelompok tikus yang diinduksi haloperidol dan diberi akuades (kelompok 2) dan tikus kelompok kontrol sehat ($p < 0,05$) (Tabel 1).

Terdapat dua kelompok kontrol negatif dalam penelitian ini yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi akuades dan minyak zaitun. Akuades merupakan pembawa pada suspensi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK. Bahan pembawa seharusnya tidak mempunyai efek farmakologi. Rata-rata AUC_{0-14} kelompok kontrol yang diberi akuades lebih kecil daripada rata-rata AUC_{0-14} kontrol positif yang diberi levodopa, dan terdapat perbedaan diantara keduanya ($p < 0,05$) (Tabel 1), sehingga dapat dinyatakan bahwa akuades sebagai pembawa ekstrak dan fraksi tidak punya aktivitas sebagai antiparkinson.

Minyak zaitun merupakan pelarut yang digunakan untuk mengencerkan vitamin E. Minyak zaitun mengandung vitamin E.²¹ Pemastian tidak adanya kontribusi kandungan vitamin E pada minyak zaitun menjadi diperlukan. AUC_{0-14} tikus kelompok kontrol negatif yang diberi akuades lebih besar dibandingkan AUC_{0-14}

kelompok yang diberi minyak zaitun. Tidak ada perbedaan yang bermakna antara nilai AUC_{0-14} kedua kelompok tersebut ($p > 0,05$) (Tabel 1), sehingga dapat dinyatakan bahwa minyak zaitun sebagai pengencer tidak mempunyai aktivitas sebagai antiparkinson.

Rata-rata AUC_{0-14} pada kelompok yang diberi EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK masing-masing dengan dosis 150, 300, dan 600 mg/kgBB berkisar antara 4.115,63 hingga 5.416,25 detik.hari. Rata-rata AUC_{0-14} terkecil merupakan AUC_{0-14} kelompok yang diberi FNHEEBK dosis 150 mg/kgBB, sedangkan rata-rata AUC_{0-14} terbesar adalah AUC_{0-14} kelompok FEAEEBK dosis 300 mg/kgBB. Rata-rata AUC_{0-14} EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK pada berbagai dosis lebih besar dibandingkan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi akuades, namun tidak ada perbedaan antara AUC_{0-14} FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB dengan AUC_{0-14} kelompok kontrol negatif yang diberi akuades ($p > 0,05$). Ekstrak dan kedua fraksi mempunyai aktivitas antiparkinson, kecuali FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB (Tabel 1). Lazimnya, peningkatan dosis senyawa akan meningkatkan pula aktivitas farmakologinya, namun kelaziman ini tidak terjadi pada FNHEEBK. Hal ini diduga terjadi karena variasi data AUC_{0-14} FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB besar, sehingga hasil analisis statistiknya tidak ada perbedaan dengan kelompok kontrol negatif yang diberi akuades.

Rata-rata AUC_{0-14} EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK pada dosis 300 mg/kgBB dari yang paling kecil hingga yang paling besar berturut-turut adalah EEBK, FNHEEBK, dan FEAEEBK. Terdapat perbedaan AUC_{0-14} pada ketiga kelompok tersebut ($p < 0,05$). Berdasarkan nilai rata-rata AUC_{0-14} , dapat dinyatakan bahwa aktivitas antiparkinson fraksi lebih besar dibandingkan EEBK (Tabel 1). Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa penyederhanaan komponen dalam EEBK melalui proses fraksinasi dapat

meningkatkan aktivitas antiparkinson. Perbandingan antar kedua jenis fraksi menunjukkan bahwa FEAEBK lebih besar efektivitasnya sebagai antiparkinson dibandingkan FNHEEBK. Perbedaan aktivitas FEAEBK dan FNHEEBK dapat dihubungkan dengan polaritas dan kandungan flavonoidnya. Polaritas flavonoid secara umum cenderung polar hingga semi polar. Fraksinasi menggunakan etil asetat menghasilkan fraksi dengan kandungan flavonoid lebih banyak dibandingkan fraksi yang diperoleh menggunakan n-heksan yang bersifat non polar. Diduga perbedaan kandungan flavonoid pada kedua fraksi membedakan besarnya aktivitas antiparkinson. Besarnya kandungan flavonoid pada FEAEBK dan FNHEEBK perlu dipastikan melalui penelitian yang lain.

Penelitian ini menggunakan dua kelompok kontrol positif yaitu levodopa dan vitamin E. Levodopa merupakan senyawa yang mudah terdekarboksilasi menjadi dopamin oleh enzim *L-amino acid decarboxylase* pada saluran gastrointestinal. Dopamin adalah senyawa yang tidak bisa menembus sawar darah otak. Penambahan benserazid sebagai inhibitor dopa-dekarboksilase dapat meningkatkan bioavailabilitas levodopa di otak dengan mencegah dekarboksilasi levodopa di saluran gastrointestinal.²² Rata-rata nilai AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK dosis 300 mg/kgBB lebih kecil secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi levodopa. Berdasarkan hasil analisis statistika tersebut dapat dinyatakan bahwa aktivitas antiparkinson EEBK, FEAEBK, dan FNHEEBK tidak sekuat levodopa (Tabel 1).

Vitamin E merupakan antioksidan yang digunakan sebagai terapi penunjang pada pengobatan penyakit Parkinson.²³ Vitamin E dipandang perlu digunakan sebagai kontrol positif karena pada penelitian ini kemampuan antiparkinson bahan uji didasarkan pada aktivitas antioksidannya. Rata-rata AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi

vitamin E lebih besar dibandingkan rata-rata AUC₀₋₁₄ kelompok yang diberi EEBK, FEAEBK, dan FNHEEBK. Uji beda AUC₀₋₁₄ antara kelompok yang diberi perlakuan FEAEBK dosis 300 mg/kgBB dengan kelompok yang diberi vitamin E menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) (Tabel 1). Hasil analisis statistika tersebut menunjukkan bahwa FEAEBK dosis 300 mg/kgBB memiliki aktivitas antiparkinson yang setara dengan vitamin E. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi FEAEBK adalah etil asetat yang bersifat semi polar, sehingga fraksi yang didapat juga bersifat semipolar. Organ yang menjadi target pada terapi Parkinson adalah otak, sehingga antiparkinson diharapkan dapat melewati sawar darah otak. Polaritas senyawa merupakan salah satu faktor yang menentukan kemampuan suatu senyawa dalam menembus sawar darah otak. Senyawa yang bersifat lipofil akan lebih mudah mencapai otak.²⁴ Fraksi yang lebih lipofil adalah FNHEEBK, namun ternyata aktivitas antiparkinson FNHEEBK tidak setara dengan vitamin E, kemungkinan karena sedikitnya kandungan flavonoid di dalamnya. Kesetaraan FEAEBK dengan vitamin E diduga karena lipofilisitasnya yang cukup untuk menembus sawar darah otak serta kandungan flavonoidnya yang lebih besar dibandingkan FNHEEBK.

Adanya aktivitas antiparkinson EEBK, FEAEBK, dan FNHEEBK pada dosis 300 mg/kg dan kesetaraan aktivitasnya dengan vitamin E, namun tidak sekuat levodopa membuka peluang pengembangan ketiga bahan uji sebagai terapi penunjang pada penyakit Parkinson. Penelitian lanjutan yang dapat dilakukan adalah pengujian aktivitas antiparkinson levodopa yang dikombinasikan dengan EEBK, FEAEBK, dan FNHEEBK.

Keberadaan flavonoid pada EEBK, FEAEBK, dan FNHEEBK dapat dihubungkan dengan aktivitas antiparkinson. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang berperan terhadap aktivitas antioksidan.²⁵

Tabel 1. Rata-rata AUC₀₋₁₄ pada semua kelompok perlakuan

Perlakuan	Rata-rata AUC ₀₋₁₄ ± SE (hari.detik)
Kontrol sehat	6.720,00 ± 0,0 ^a
Kontrol negatif dengan akuades 12,5 mL/kgBB	3.674,50 ± 173,5
Kontrol negatif dengan minyak zaitun 1 mL/kgBB	3.483,63 ± 194,1 ^b
Kontrol positif levodopa 27 mg/kgBB	6.006,13 ± 163,0 ^a
Kontrol positif vitamin E 180 IU/kgBB	5.423,83 ± 44,8 ^a
EEBK 150 mg/kgBB	4.285,63 ± 71,5 ^a
EEBK 300 mg/kgBB	4.624,13 ± 100,7 ^{a,c,d}
EEBK 600 mg/kgBB	5.074,33 ± 64,0 ^a
FEAEEBK 150 mg/kgBB	5.162,50 ± 112,9 ^a
FEAEEBK 300 mg/kgBB	5.416,25 ± 32,5 ^{a,c}
FEAEEBK 600 mg/kgBB	5.194,00 ± 87,2 ^a
FNHEEBK 150 mg/kgBB	4.115,63 ± 209,5 ^b
FNHEEBK 300 mg/kgBB	4.985,75 ± 91,0 ^{a,c}
FNHEEBK 600 mg/kgBB	4.759,00 ± 408,4 ^b

^a : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif akuades

^b : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif akuades

^c : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif levodopa

^d : Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan FEAEEBK dan FNHEEBK 300 mg/kgBB

Paparan radikal bebas menjadi salah satu faktor resiko rusaknya neuron dopaminergik yang mengakibatkan penurunan kadar dopamin dalam otak. Penurunan kadar dopamin menimbulkan berbagai gejala penyakit Parkinson.²⁶ Beberapa jenis senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan menjanjikan untuk dikembangkan sebagai terapi penyakit Parkinson.²⁷

KESIMPULAN

Flavonoid terkandung dalam EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK. Aktivitas

antiparkinson ditunjukkan dalam EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK pada dosis 150, 300, dan 600 mg/kgBB, kecuali FNHEEBK dosis 150 dan 600 mg/kgBB. Berdasarkan rata-rata AUC₀₋₁₄, perbandingan aktivitas antiparkinson EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK pada dosis 300 mg/kgBB menunjukkan bahwa FEAEEBK mempunyai aktivitas antiparkinson yang paling besar. Aktivitas antiparkinson EEBK, FEAHEEBK, dan FNHEEBK tidak sekuat levodopa. FEAEEBK dosis 300 mg/kgBB mempunyai aktivitas antiparkinson yang setara dengan vitamin E.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian kadar flavonoid total pada EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK sekaligus penentuan aktivitas antioksidan untuk mengetahui korelasi dengan aktivitas antiparkinsonnya. Lanjutan penelitian ini disarankan pengujian aktivitas antiparkinson levodopa yang dikombinasikan dengan EEBK, FEAEEBK, dan FNHEEBK. Selain itu, dapat pula dilakukan pada FEAEEBK yang difokuskan pada aktivitasnya dalam menangani gejala penyakit Parkinson non motorik, misalnya sebagai peningkat daya ingat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan dana dari DIPA Universitas Wahid Hasyim.

DAFTAR RUJUKAN

1. Lee TK, Yankee EL. A review on Parkinson's disease treatment. Neuroimmunol Neuroinflammation. 2021;8.
2. Moon HE, Paek SH. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. Exp Neurobiol. 2015 Jun 30;24(2):103–16. doi: 10.5607/en.2015.24.2.103
3. Picca A, Calvani R, Coelho-Júnior HJ, Landi F, Bernabei R, Marzetti E. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and neuroinflammation: Intertwined roads to neurodegeneration. Antioxidants.

- 2020;9(8):1–21.
doi: 10.3390/antiox9080647
4. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018 Apr;13:757–72. doi: 10.2147/CIA.S158513
5. Park JS, Davis RL, Sue CM. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: new mechanistic insights and therapeutic perspectives. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2018;18(5). doi: 10.1007/s11910-018-0829-3.
6. Iarkov A, Barreto GE, Grizzell JA, Echeverria V. Strategies for the treatment of Parkinson's disease: beyond dopamine. *Front Aging Neurosci*. 2020;12(January):1–20. doi: 10.3389/fnagi.2020.00004
7. Jellinger KA. Parkinson's disease. Pathobiology of human disease: a dynamic encyclopedia of disease mechanisms. Elsevier Inc.;2014.2021–35p.
8. Church FC. Treatment options for motor and non-motor symptoms of parkinson's disease. *Biomolecules*. 2021;11(4). doi: 10.3390/biom11040612
9. DeMaagd G, Philip A. Parkinson's disease and its management: part 1: disease entity, risk factors, pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis. *P T*. 2015 Aug;40(8):504–32.
10. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(6):548–60. doi: 10.1001/jama.2019.22360.
11. Gandhi KR, Saadabadi A. Levodopa (L-Dopa). StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2021.
12. Banjarnahor SDS, Artanti N. Antioxidant properties of flavonoids. *Med J Indones*. 2014;23(4):239–44.
13. Jung UJ, Kim SR. Beneficial effects of flavonoids against Parkinson's disease. *J Med Food*. 2018;21(5):421–32.
14. Makmun MT al, Widodo SE, Sunarto. Construing traditional javanese herbal medicine of headache: transliterating, translating, and interpreting serat primbon jampi Jawi. *Procedia - Soc Behav Sci*. 2014;134:238–45.
15. Nahak G, Sahu RK. Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Piper cubeba* and *Piper nigrum*. *J Appl Pharm Sci*. 2011;1(8):153–7.
16. Khalaf NA, Shakya AK, Al-Othman A, El-Agbar Z, Farah H. Antioxidant activity of some common plants. *Turkish J Biol*. 2008;32(1):51–5.
17. Ardhiyanta IR, Peranginangin JM, Handayani R. Antiparkinson activity of rosella extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) in white male (*Rattus norvegicus*) sprague dawley rats induced by haloperidol. *J Farm Indones*. 2017;14(2):160–8.
18. AlSaid M, Mothana R, Raish M, Al-Sohaibani M, Al-Yahya M, Ahmad A, et al. Evaluation of the effectiveness of *Piper cubeba* extract in the amelioration of CCl₄-induced liver injuries and oxidative damage in the rodent model. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1–11.
19. Waku I, Magalhães MS, Alves CO, de Oliveira AR. Haloperidol-induced catalepsy as an animal model for parkinsonism: a systematic review of experimental studies. *Eur J Neurosci*. 2021;53(11):3743–67.
20. Duty S, Jenner P. Animal models of Parkinson's disease: A source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *Br J Pharmacol*. 2011;164(4):1357–91.
21. Khedir S Ben. Effects of minor components of olive oil on health. *J Complement Med Altern Healthc*. 2018;5(2):6–10.
22. Nord M. Levodopa pharmacokinetics - from stomach to brain: a study on patients with Parkinson's disease. 2017;1–79 p.
23. Schirinzi T, Martella G, Imbriani P, Di Lazzaro G, Franco D, Colona VL, et al. Dietary vitamin E as a protective factor for Parkinson's disease: clinical and experimental evidence. *Front Neurol*. 2019;10(February):1–7.
24. Bellettato CM, Scarpa M. Possible strategies to cross the blood–brain barrier. *Ital J Pediatr*. 2018;44(S2).
25. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. 2000;63(7):1035–42.
26. Ortiz GG, Pacheco-Moisés FP, Mireles-Ramírez MA, Flores-Alvarado LJ, González-Usigli H, Sánchez-López AL, et al. Oxidative stress and Parkinson's disease: effects on environmental toxicology. *Free Radicals Dis*. 2016;
27. Filograna R, Beltramini M, Bubacco L, Bisaglia M. Anti-oxidants in Parkinson's disease therapy: a critical point of view.

Curr Neuroparmacol. 2016;14(3):260–71.



Isolasi dan Skrining Aktivitas Antibakteri Fungi Tanah Muara Desa Katialada Gorontalo Lokasi Satu terhadap *Staphylococcus aureus*

Isolation and Antibacterial Activity Screening of Soil Fungi in the Estuary of Katialada Gorontalo, Location One Against Staphylococcus aureus

Wilda Nur Rohmatillah, Muhammad Zainul Arifin, Saeful Akhmad Tauladani, Gani Asri Muharam, Asia Asia, Dwi Koko Pratoko, Ari Satia Nugraha*

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Negeri Jember, Jember, Indonesia

*E-mail: arisatia@unej.ac.id

Abstrak

Kata kunci:
Antibakteri;
Staphylococcus aureus; Isolasi
fungi tanah

Keywords:
Antibacterial;
Staphylococcus aureus; Soil fungi
isolation

Received:
22-04-2022
Revised:
04-07-2022
Accepted:
18-07-2022

Resistensi antibiotik menjadi penghalang dalam pengendalian penyakit infeksi sehingga alternatif penemuan antibiotik baru perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi metabolit sekunder isolat fungi tanah muara Desa Katialada Gorontalo Lokasi Satu sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Parameter antibakteri yang diamati adalah persen penghambatan ekstrak etil asetat hasil fermentasi isolat fungi tanah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sampel tanah muara dikultur dalam media PDA dan diisolasi hingga menjadi isolat fungi tunggal. Lima isolat fungi tunggal yang dibedakan berdasarkan warna, tekstur, serta bentuk dan diberi kode IS2-BTG-4.1.1, IS2-BTG-4.1.2, IS1-BTG-4.2, IS2-BTG-4.3.1, dan IS2-BTG-4.3.2. Kelima isolat fungi tanah muara difermentasi menggunakan media PDB dan hasil fermentasi diekstraksi dengan pelarut etil asetat. Ekstrak yang diperoleh diskriminasi kandungan senyawanya menggunakan lempeng KLT dan dilakukan pengujian antibakteri dengan konsentrasi tunggal 100 µg/mL pada metode mikrodilusi. Kelima ekstrak etil asetat hasil fermentasi isolat fungi tanah muara mengandung senyawa golongan terpenoid dan isolat dengan kode IS2-BTG-4.3.2 juga mengandung senyawa golongan alkaloid. Kelima ekstrak etil asetat hasil fermentasi isolat fungi tanah muara memiliki aktivitas penghambatan pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan persen penghambatan pada ekstrak IS2-BTG-4.1.1 sebesar 50,2% ± 14,8%, IS2-BTG-4.1.2 35,6% ± 12,9%, IS1-BTG-4.2 13,0% ± 7,3%, IS2-BTG-4.3.1 13,6% ± 6,0%, dan IS2-BTG-4.3.2 sebesar 12,4% ± 9,2%.

Abstract

**Jurnal Kefarmasian
Indonesia,**
2022;12(2):99-108

DOI:
<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.5978>

The emergence of antibiotic resistance becomes a barrier in controlling infectious diseases, so it is necessary to find new alternative antibiotics. This study aimed to explore the potential of estuarine soil fungi's secondary metabolites isolated from Katialada Village Gorontalo Location One and test their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. The antibacterial parameter observed was the percent inhibition of ethyl acetate extracts against *Staphylococcus aureus*. The estuarine soil samples were cultured in PDA media producing five single fungal isolates differentiated based on color morphology, texture, and shape coded IS2-BTG-4.1.1, IS2-BTG-4.1.2, IS1-BTG-4.2, IS2-BTG-4.3.1, and IS2-BTG-4.3.2. Those five samples were fermented using PDB media and the fermented products were extracted with ethyl acetate. The extracts were screened for its compound using a TLC plate and antibacterial testing with a single concentration of 100 g/mL in the microdilution method. The screening results showed that the five ethyl acetate extracts contained terpenoid compounds and code IS2-BTG-4.3.2 also had alkaloids. Based on the antibacterial test results, the five ethyl acetate extracts had growth inhibitory activity on the *Staphylococcus aureus*, with the percentage showed by IS2-BTG-4.1.1 50,2% ± 14,8%, IS2-BTG-4.1.2 35,6% ± 12,9%, IS1-BTG-4.2 13,0% ± 7,3%, IS2-BTG-4.3.1 13,6% ± 6,0%, and IS2-BTG-4.3.2 by 12,4% ± 9,2%.

PENDAHULUAN

Salah satu masalah kesehatan yang menjadi perhatian khusus adalah penyakit infeksi. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan karena adanya infeksi oleh mikroorganisme patogen dalam tubuh yang disertai atau tanpa gejala.¹ Berdasarkan data *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) 2020, terdapat 10 peringkat teratas penyakit penyebab kematian terbesar di Indonesia dan 7 di antaranya adalah penyakit infeksi.² Pengendalian penyakit infeksi dilakukan menggunakan agen yang dikenal sebagai antibiotik. Tantangan terbesar untuk mengendalikan penyakit infeksi adalah adanya resistensi antibiotik. World Health Organization WHO menyatakan bahwa pada tahun 2014 angka kematian akibat resistensi antibiotik di seluruh dunia sebesar 700.000 jiwa per tahun. Angka tersebut diperkirakan meningkat hingga 10 juta jiwa pada tahun 2050 apabila tidak dikendalikan.³

Salah satu bakteri yang resisten terhadap antibiotik adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, yang resisten hanya dalam waktu 2 tahun setelah pengenalan penisilin dengan MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) sebagai bentuk resistensinya.⁴ Adanya pengembangan obat baru yang efektif dan terjangkau untuk mengobati infeksi bakteri perlu dilakukan untuk mencegah adanya resistensi.¹ Sumber utama antibiotik di masa lalu adalah senyawa bahan alam dan dibuktikan dengan penemuan antibiotik β -laktam yang berasal dari mikroorganisme lalu diikuti dengan penemuan aminoglikosida, poliketida, glikopeptida, dan golongan antibiotik lainnya.⁵

Eksplorasi tanah dalam penyaringan mikroorganisme yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif telah direkomendasikan. Antibiotik seperti β -laktam, streptomisin, aminoglikosida, dan tetrasiklin diproduksi oleh bakteri dan fungi tanah.⁶ Fungi tanah secara metabolik sangat aktif dan mampu menghasilkan banyak zat seperti metabolit sekunder dan pigmen.⁷

Salah satu ekosistem tanah yang berpotensi dalam penemuan senyawa baru dengan keberadaan mikroorganisme khususnya fungi adalah tanah muara. Mangrove merupakan salah satu ekosistem yang sering dijumpai pada tanah muara. Perbedaan salinitas memberikan pengaruh terhadap komunitas fungi rizosfer di ekosistem mangrove.⁸ Kondisi atipikal akar mangrove dapat membuat habitat yang kaya akan nutrisi sehingga memungkinkan kolonisasi mikroorganisme yang beragam khususnya fungi.⁹

Berdasarkan uraian di atas, fungi tanah sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai agen antibiotik baru dalam menangani resistensi antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi fungi tanah muara yang berlokasi di Desa Katialada Gorontalo lokasi satu dalam menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *single concentration* 100 $\mu\text{g/mL}$ pada metode mikrodilusi. Persen penghambatan ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi tanah muara digunakan sebagai parameter aktivitas antibakteri dalam penelitian ini.

METODE

Alat

Neraca analitik (OHAUS®), *hot plate* (HEIDOLPH®), *Laminar Air Flow* (LAF) (THERMO SCIENTIFIC® 1300 SERIES A2), *spreader*, *autoklaf* (B-ONE), *centrifuge*, *vortex* (GENE-2®), *shaker incubator* (B-ONE®), jarum ose, jangka sorong (TRICLE BRAND®), mikroskop, *micropipet* (SOCOREX®), *microplate* 96-well, *microplate reader* (CORONA® SH-100), Lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT), *Chamber* KLT (CAMAG®), spektrofotometer UV-Vis, corong pisah (SCHOTT DURAN®), dan detektor ultraviolet.

Bahan

Tanah muara Desa Katialada, Kecamatan Kwandang, Kabupaten Gorontalo Utara, Provinsi Gorontalo lokasi satu, air laut, aqua demineral

(HYDROBATT®), aquabidest steril, *Potato Dextrose Agar* (PDA) (HIMEDIA®), *Potato Dextrose Broth* (PDB) (HIMEDIA®), *Mueller Hinton Agar* (MHA) (MERCK®), *Mueller Hinton Broth* (MHB) (HIMEDIA®), *Cation Adjusted Mueller* (CAMHB), NaCl 0,9%, etanol 70%, etil asetat pa, DMSO (Emsure®), MgCl₂ (Brataco®), CaCl₂ (Sigma®), BaCl₂, H₂SO₄, gentamisin sulfat, bakteri *Staphylococcus aureus*, lempeng KLT (Kromatografi Lapis Tipis) silika gel F₂₅₄, reagen Dragendorff, reagen Vanilin-H₂SO₄, reagen FeCl₃.

Preparasi media

Media yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu media PDA, PDB, MHA, MHB, dan CAMHB. Media PDA dibuat dengan melarutkan 9,75 gram PDA dalam 250 mL air laut pada erlenmayer. Media PDB dibuat dengan melarutkan 4,8 gram PDB dalam 200 mL aqua demineral pada erlenmayer. Media MHA dibuat dengan melarutkan 6,8 gram MHA dalam 200 mL air laut pada erlenmayer. Media MHB dibuat dengan melarutkan 4,2 gram MHB dalam 200 mL air laut pada erlenmayer. Media CAMHB merupakan media MHB steril yang ditambahkan kation Mg²⁺ sebanyak 225 µL dan kation Ca²⁺ sebanyak 450 µL. Semua proses dilakukan secara aseptis di bawah LAF.

Preparasi sampel tanah

Sampel tanah didapat dari Desa Katialada, Kecamatan Kwandang, Kabupaten Gorontalo Utara, Provinsi Gorontalo lokasi satu. Sampel tanah, diambil secukupnya, dan dimasukkan kedalam tabung sentrifus dan disuspensikan dengan menggunakan 10 mL aquabidest steril. Kedua campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex* selama 3 menit dan disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang didapat diambil 100 µL untuk dikultur pada media PDA dan diratakan menggunakan *spreader*. Semua proses dilakukan secara aseptis dibawah LAF dan biakan yang telah dibuat kemudian diinkubasi pada suhu $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$

selama 7 hari. Pemilihan suhu $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ disesuaikan dengan suhu optimum dalam pertumbuhan fungi yaitu pada suhu $25 - 30^{\circ}\text{C}$.¹⁰

Isolasi fungi tanah muara

Isolat fungi yang tumbuh kemudian diamati pertumbuhannya secara makroskopis. Isolasi dilakukan dengan cara memindahkan isolat fungi ke media PDA yang baru berdasarkan perbedaan morfologi seperti warna, tekstur, dan bentuk hingga menjadi isolat fungi tunggal.

Skrining awal aktivitas antibakteri

Skrining awal aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode uji antagonis atau uji kontak langsung. Proses tersebut dilakukan dengan mengontakkan langsung isolat fungi tanah muara tunggal pada media MHA yang sebelumnya sudah dikultur bakteri uji. Bakteri dikultur dengan menginokulasikan 100 µL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dalam NaCl fisiologis ke media MHA. Uji antagonis dilakukan secara aseptis dan diinkubasi pada suhu $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 18 – 24 jam.¹¹

Fermentasi fungi tanah muara

Fermentasi pada penelitian ini menggunakan metode *batch fermentation* dengan memasukkan sejumlah 5 sumuran isolat fungi tanah muara tunggal dalam 200 media PDB steril. Campuran yang telah dibuat, diinkubasi pada suhu $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 14 hari dengan bantuan *shaker* kecepatan 125 rpm.

Ekstraksi fungi tanah muara

Proses ekstraksi dilakukan pada penelitian ini merupakan ekstraksi partisi cair-cair dengan cara menambahkan pelarut etil asetat kedalam media hasil fermentasi dengan perbandingan 1:1 sebanyak 2–3 kali replikasi. Etil asetat yang diapat dari proses ekstraksi diuapkan dan diambil ekstrak yang dihasilkan, ditimbang bobotnya, dihitung rendemennya dan disimpan.

Skrining kandungan senyawa

Skrining kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi tanah muara dengan menggunakan metode KLT. Ekstrak yang

didapat dilarutkan menggunakan metanol dan ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dieluasi menggunakan eluen diklorometana : metanol (9:1). Lempeng KLT yang telah dieluasi dideteksi dengan penampak noda dragendorff, vanilin-H₂SO₄, dan FeCl₃. Reagen vanillin-H₂SO₄ digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa golongan terpenoid yang ditandai dengan noda berwarna ungu. Reagen FeCl₃ digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa golongan fenolat yang ditandai dengan noda berwarna hitam.¹²

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode mikrodilusi yang dilakukan pada penelitian ini mengacu pada CLSI M07-A09.¹³ Konsentrasi suspensi bakteri yang digunakan adalah 1×10^6 CFU/mL dalam media CAMHB dan pada setiap sumuran berisi 50 μ L. Larutan kontrol positif, kontrol negatif, dan ekstrak yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 50 μ L pada setiap sumuran. Kelompok perlakuan pada pengujian ini berisi ekstrak dalam DMSO 1% sebanyak 50 μ L dan bakteri dalam media CAMHB sebanyak 50 μ L. Kontrol ekstrak terdiri dari ekstrak dalam DMSO 1% sebanyak 50 μ L dan media CAMHB sebanyak 50 μ L. Kontrol positif terdiri dari gentamisin dalam media CAMHB sebanyak 50 μ L dan bakteri dalam media CAMHB sebanyak 50 μ L. Kontrol gentamisin terdiri dari gentamisin dalam media CAMHB sebanyak 50 μ L dan media CAMHB sebanyak 50 μ L. Kontrol negatif ekstrak terdiri dari DMSO 1% dalam media CAMHB sebanyak 50 μ L dan bakteri dalam media CAMHB sebanyak 50 μ L. Kontrol DMSO terdiri dari DMSO 1% dalam media CAMHB dan media CAMHB sebanyak 50 μ L. Kontrol negatif gentamisin terdiri dari media CAMHB sebanyak 50 μ L dan bakteri dalam media CAMHB sebanyak 50 μ L. Kontrol media terdiri dari media CAMHB sebanyak 100 μ L. *Microplate* yang telah berisi larutan uji kemudian diinkubasi pada suhu $35 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 18 – 20 jam dengan bantuan *shaker* kecepatan 120 rpm.

Analisis data

Hasil yang didapat dalam pengujian ini adalah nilai absorbansi. Data absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan dalam rumus penghambatan (%) sebagai berikut:

$$\text{Penghambatan (\%)} = \left(1 - \frac{(\text{Abs C} - \text{Abs D})}{(\text{Abs A} - \text{Abs B})}\right) \times 100\%$$

Keterangan:

Abs : absorbansi

A : kontrol negatif ekstrak/gentamisin

B : kontrol DMSO 1% /media CAMHB

C : larutan uji ekstrak/gentamisin

D : kontrol ekstrak/gentamisin

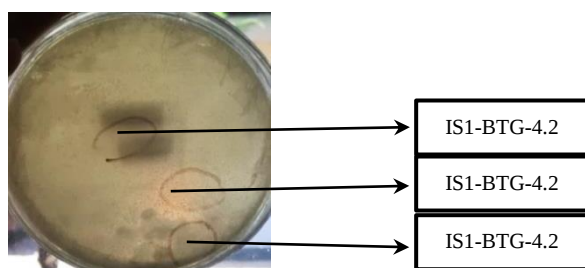
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembiakan dan isolasi fungi tanah muara

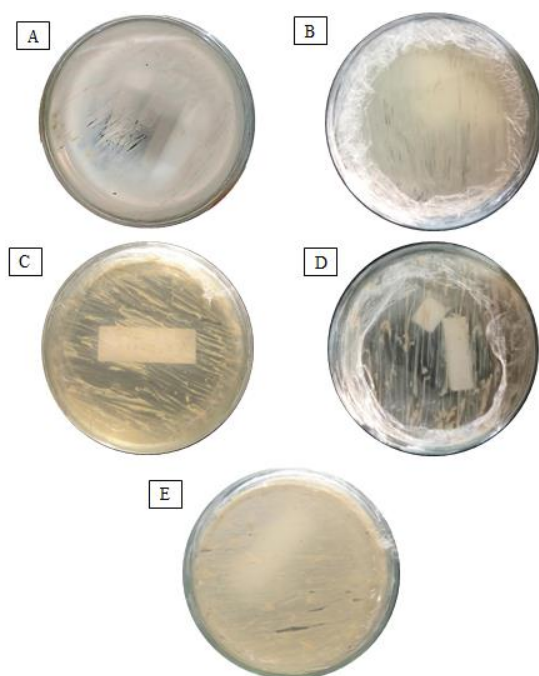
Supernatan yang dihasilkan dari campuran tanah dan air steril kemudian ditumbuhkan dalam media PDA dengan pelarut air laut. Media PDA merupakan media yang cocok untuk penumbuhan fungi, karena kandungan sari pati kentang dan dextrose yang mampu mendorong sporulasi fungi.¹⁴ Parameter yang diamati selama masa inkubasi adalah variasi pertumbuhan fungi. Variasi fungi yang tumbuh kemudian dipisahkan dengan melakukan isolasi kembali dalam media PDA baru berdasarkan perbedaan morfologis seperti warna, tekstur, dan bentuk (Gambar 1). Secara visual terdapat 3 variasi pertumbuhan fungi dan dari 3 perbedaan tersebut diisolasi ke media PDA baru. Hasil akhir didapat 5 isolat fungi tanah muara seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2 dan karakteristik makroskopis dari masing-masing isolat fungi tanah muara dapat dilihat pada Tabel 1.

Identifikasi makroskopis dan mikroskopis

Hasil identifikasi makroskopis dan mikroskopis fungi tanah pada penelitian ini adalah jenis fungi *yeast*. Fungi *yeast* merupakan fungi dengan karakteristik terdiri dari sel soliter dengan bentuk bulat hingga oval dan tumbuh mirip seperti koloni bakteri.¹⁵



Gambar 1. Penumbuhan fungi tanah pertama kali pada media PDA



Gambar 2. Hasil isolasi fungi tanah muara terdapat lima isolat; (a) IS2-BTG-4.1.1, (b) IS2-BTG-4.1.2, (c) IS1-BTG-4.2, (d) IS2-BTG-4.3.1, (e) IS2-BTG-4.3.2

Tabel 1. Karakteristik makroskopis isolat fungi tanah muara

Isolat	Karakteristik
IS2-BTG-4.1.2	Putih susu, kasar, keruh
IS1-BTG-4.2	Kuning pucat, halus, kental
IS2-BTG-4.3.1	Putih kekuningan, halus, kering
IS2-BTG-4.3.2	Putih kekuningan, halus, keruh

Morfologi makroskopis *yeast* pada penelitian yang dilakukan oleh Nurcholis M., dkk¹⁶ tentang isolasi dan karakteristik *yeast* pada buah lokal di Indonesia berwarna putih, halus, mengkilap, dan keruh, sedangkan morfologi mikroskopis berbentuk oval dan bulat. Penelitian lain

juga menunjukkan bahwa bentuk mikroskopis dari *yeast* adalah oval hingga bulat.¹⁷ Pada penelitian ini karakteristik fungi yang didapat memiliki struktur sel soliter, berbentuk oval, dan tumbuh mirip seperti koloni bakteri. Secara kasat mata, perbedaan morfologi makroskopis antara kelima isolat memiliki penampakan yang berbeda. Hal ini dimungkinkan bahwa spesies fungi yang berbeda pada setiap isolat, namun perlu dilakukan pembuktian bahwa isolat tersebut benar-benar merupakan spesies fungi yang berbeda dengan menggunakan analisis filogenik.

Skrining awal pengujian aktivitas antibakteri

Skrining awal pada penelitian ini mengamati zona bening yang terbentuk disekitar isolat saat dilakukan uji antagonis. Berdasarkan hasil uji antagonis, zona bening yang terbentuk tidak terlalu jelas. Hambatan yang dihasilkan tidak terlalu kuat karena pada pengujian ini hanya mengontakkan isolat fungi dengan jumlah yang kecil pada bakteri uji. Hal tersebut berpengaruh terhadap metabolit sekunder yang dihasilkan, bisa saja metabolit sekunder belum cukup dihasilkan atau konsentrasinya belum cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sara-Ramiez, dkk yang melaporkan bahwa hambatan yang dihasilkan dalam bentuk ekstrak pada pertumbuhan bakteri akan jauh lebih besar dibandingkan pada saat masih dalam bentuk isolat fungi.¹⁸

Fermentasi dan ekstraksi fungi tanah

Fermentasi merupakan suatu proses yang bertujuan untuk memperbanyak biomassa isolat fungi tanah muara. dipilih metode *batch fermentation* karena prosesnya yang mudah dibandingkan dengan metode fermentasi yang lain, selain itu fermentasi pada metode ini resiko kontaminasinya rendah.¹⁹ Media PDB dipilih karena memiliki kandungan pati kentang yang menyediakan unsur nitrogen, vitamin dan mineral yang dibutuhkan dalam pertumbuhan fungi.²⁰ Selama proses

fermentasi dibantu dengan agitasi untuk menghomogenkan nutrisi yang ada pada media menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 125 rpm. Pemilihan waktu 14 hari untuk fermentasi disesuaikan dengan fase logaritmik dan pertumbuhan stasioner pada fungi karena berpengaruh terhadap metabolit sekunder yang dihasilkan, hasil fermentasi bisa dilihat pada gambar 3. Metabolit sekunder dan enzim dihasilkan oleh isolat fungi selama proses fermentasi berlangsung yang ditandai dengan perubahan warna pada media PDB.²⁰



Gambar 3. Hasil fermentasi selama 14 hari isolat fungi tanah muara

Ekstraksi merupakan suatu proses untuk menyaring metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat fungi selama proses fermentasi. Etil asetat digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi karena sifatnya yang kurang toksik, mudah menguap, dan semi polar sehingga diharapkan dapat menarik metabolit sekunder yang bersifat polar maupun nonpolar dengan maksimal. Hasil perhitungan persentase rendemen ekstrak etil asetat fungi tanah muara dapat dilihat pada Tabel 2.

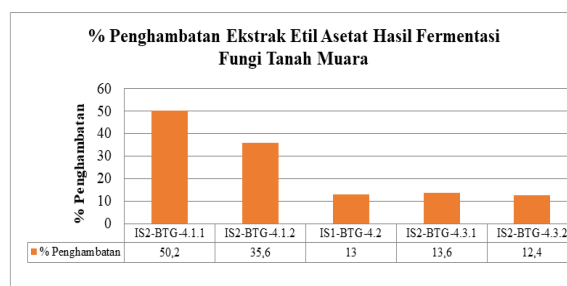
Perbedaan kondisi, perlakuan, jumlah kultur fungi, spesies fungi, dan jenis senyawa yang terkandung dalam fungi tanah dapat berpengaruh terhadap persentase rendemen yang dihasilkan. Ekstrak dengan kode isolat fungi IS2-BTG-4.3.2 merupakan ekstrak dengan persentase rendemen tertinggi (0,266%) dan IS2-BTG-4.3.1 merupakan ekstrak dengan persentase rendemen terkecil (0,009%).

Tabel 2. Persentase rendemen ekstrak etil asetat fungi tanah muara

Kode Fungi	Volume Media (mL)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
IS2-BTG-4.1.1	190	0,019	0,01
IS2-BTG-4.1.2	178	0,261	0,146
IS1-BTG-4.2	186	0,027	0,014
IS2-BTG-4.3.1	180	0,017	0,009
IS2-BTG-4.3.2	172	0,459	0,266

Skrining kandungan senyawa

Skrining kandungan senyawa pada ekstrak isolat fungi tanah muara dilakukan untuk mendeteksi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat. Hasil optimasi eluen menunjukkan eluen yang optimum adalah diklorometana : metanol (9 : 1) dan hasil elusi lempeng KLT seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram batang penghambatan (%) ekstrak etil asetat fungi tanah muara terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Kondisi analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah fase diam lempeng KLT F₂₅₄, fase gerak diklorometana: metanol (9:1), jarak pengembangan 4 cm, penampak noda dragendorff, vanilin H₂SO₄, dan FeCl₃. Tabel 3 menunjukkan hasil identifikasi golongan senyawa pada ekstrak isolat fungi tanah muara.

Tabel 3. Identifikasi golongan senyawa ekstrak etil asetat fungi tanah muara

Kode Ekstrak Fungi	Alkaloid	Hasil Uji Terpenoid/ Steroid	Fenolat
IS2-BTG-4.1.1	-	+	-
IS2-BTG-4.1.2	-	+	-
IS1-BTG-4.2	-	+	-
IS2-BTG-4.3.1	-	+	-
IS2-BTG-4.3.2	+	+	-

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan ekstrak etil asetat isolat fungi tanah muara yang diuji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Digunakan metode pengujian mikrodilusi untuk mendapatkan data penghambatan (%) sesuai dengan protokol pada *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI). Media CAMHB (*Cation Adjusted Mueller Hinton Broth*) digunakan pada pengujian ini sebagai standarisasi kadar kation seperti Mg^{2+} dan Ca^{2+} dalam media *Mueller Hinton Broth*. Adanya kation sangat berpengaruh terhadap pengujian aktivitas antibakteri karena dapat mempengaruhi integritas membran sel bakteri.²¹

Kontrol positif dan kontrol negatif dalam pengujian pasti diperlukan agar didapat data hasil yang baik. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan gentamisin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Sesuai dengan persyaratan pada CLSI, konsentrasi gentamisin yang digunakan adalah 1 µg/mL dengan penghambatan (%) pada metode pengujian mikrodilusi $\geq 80\%$ dan apabila tidak sesuai dengan persyaratan perlu dilakukan penyesuaian kadar kation dalam media kembali.¹³ Pada penelitian ini, penyesuaian kadar kation tidak perlu dilakukan karena konsentrasi kontrol negatif yang digunakan sudah sesuai dan nilai penghambatan (%) yang didapat oleh kontrol positif $\geq 80\%$. Tabel 3 merupakan hasil penghambatan (%) dari gentamisin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. DMSO sebagai kontrol negatif juga digunakan sebagai kosolven ekstrak etil asetat dalam media CAMHB. Sesuai dengan protokol yang ditetapkan pada CLSI, konsentrasi DMSO yang digunakan adalah 1%.¹³ Hal ini dikarenakan DMSO termasuk kosolven surfaktan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri apabila konsentrasinya melebihi 1%.²² Aktivitas penghambatan ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi tanah muara dicantumkan

pada Tabel 4 dan diagram batang pada Gambar 4.

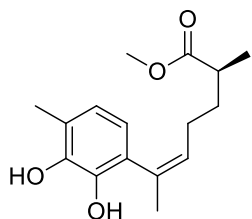
Tabel 4. Rerata Penghambatan kontrol + dan kontrol –, dan ekstrak etil asetat fungi tanah muara terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Kode Kontrol dan Fungi	Rerata		
	Penghambatan Pertumbuhan Bakteri (%)	SD (%)	CV (%)
Kontrol + (Gentamisin)	99,3	0,6	0,6
Kontrol – (DMSO)	8,5	1,1	13,4
IS2-BTG-4.1.1	50,2	7,4	14,8
IS2-BTG-4.1.2	35,6	4,6	12,9
IS1-BTG-4.2	13,0	1,0	7,3
IS2-BTG-4.3.1	13,6	0,8	6,0
IS2-BTG-4.3.2	12,4	1,1	9,2

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi ekstrak etil asetat fungi tanah muara memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* didapat nilai penghambatan (%) tertinggi yaitu pada ekstrak dengan kode IS2-BTG-4.1.1 (50,2 ± 14,8%) dan penghambatan (%) terendah adalah ekstrak dengan kode IS2-BTG-4.3.2 (12,4 ± 9,2%). *Coefficient of variation* (CV) pada penelitian ini sudah memenuhi persyaratan CV penelitian berbasis sel yaitu < 30% sehingga keterulangan metode pada penelitian ini dapat diterima (23). Pada skrining kandungan senyawa, kelima ekstrak etil asetat fungi tanah muara mengandung senyawa terpenoid dan ekstrak dengan kode IS2-BTG-4.3.2 juga mengandung senyawa alkaloid. Kedua golongan senyawa tersebut yang diduga berperan dalam aktivitas antibakteri.

Terpenoid merupakan golongan senyawa yang terdiri dari gugus isopren dan disintesis melalui dua jalur yaitu non-mevalonat dan jalur mevalonat. Penelitian yang dilakukan oleh Liu, dkk²⁴ menunjukkan bahwa senyawa yang berhasil diisolasi dari fungi *Aspergillus sydowii* SW9 dengan nama senyawa methyl (R,E)-6-(2,3-dihydroxy-4-methylpenyl)-2-methylhept-5-enoate (Gambar 5) termasuk dalam kelompok seskuiterpenoid. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri

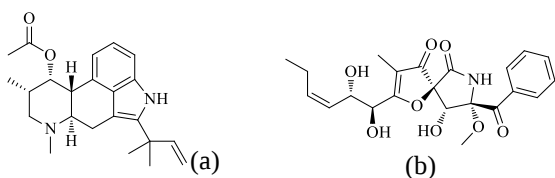
terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *S. pneumoniae* dengan rentang nilai MIC sebesar 2-16 µg/mL.



Gambar 5. Struktur senyawa methyl (R,E)-6-(2,3-dihydroxy-4-methylphenyl)-2-methylhept-5-enoate

Mekanisme kerja dari senyawa terpenoid sebagai aktivitas antibakteri adalah menghambat dua proses penting untuk kelangsungan hidup bakteri yaitu pada penyerapan oksigen dan fosforilasi oksidatif.²⁵

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa yang banyak ditemukan pada bakteri, jamur, tumbuhan, dan hewan dengan pendistribusian yang cukup terbatas. Penelitian yang dilakukan oleh Pienheiro, dkk tentang pengujian aktivitas antibakteri senyawa yang berhasil diisolasi dari fungi *Aspergillus* sp., yaitu senyawa fumigaclavine C dan pseurotin A (Gambar 6 a,b), terhadap beberapa bakteri uji salah satunya bakteri *S. aureus* dengan nilai penghambatan MIC sebesar 15,62 µg/mL untuk senyawa fumigaclavin C dan 15,6 µg/mL untuk senyawa Pseurotin A.²⁶



Gambar 6. Struktur senyawa fumigaclavine C (a) dan pseurotin A (b)

Kedua senyawa tersebut termasuk dalam golongan senyawa alkaloid. mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat pembelahan sel, mengurangi konsumsi oksigen, mengganggu homeostasis bakteri,

dan mengurangi integritas membran sel bakteri.²⁷

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian yang telah dilakukan, lima isolat fungi tanah muara yang didapat termasuk ke dalam kelompok *yeast* dan lima isolat tersebut diberi kode IS2-BTG-4.1.1, IS2BTG-4.1.2, IS1-BTG-4.2, IS2-BTG-4.3.1, dan IS2-BTG-4.3.2. Hasil skrining kandungan senyawa ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi tanah muara menunjukkan kelima ekstrak mengandung senyawa golongan terpenoid dan ekstrak IS2-BTG-4.3.2 mengandung senyawa golongan alkaloid. Pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat fungi tanah muara dengan *single concentration* 100 µg/mL menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan persen penghambatan tertinggi pada ekstrak IS2-BTG-4.1.1 sebesar 50,2% ± 14,8% dan terendah pada ekstrak IS2-BTG-4.3.2 sebesar 12,4% ± 9,2%.

SARAN

Pengujian lanjutan perlu dilakukan untuk memastikan aktivitas dari masing-masing isolate terkait nilai IC₅₀ yang dihasilkan terhadap bakteri uji. Pengujian lanjutan perlu dilakukan untuk memastikan aktivitas dari masing-masing isolat terkait nilai IC₅₀ yang dihasilkan terhadap bakteri uji. Pengujian lanjutan perlu dilakukan untuk memastikan aktivitas dari masing-masing isolat terkait nilai IC₅₀ yang dihasilkan terhadap bakteri uji. Pengujian lanjutan perlu dilakukan untuk memastikan aktivitas dari masing-masing isolat terkait nilai IC₅₀ yang dihasilkan terhadap bakteri uji.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan pada kelompok riset DUDRG (*Drug Utilisation Discovery Research Group*), Fakultas Farmasi, Universitas Jember, dan

Politeknik Kelautan dan Perikanan Bitung atas dukungan fasilitas pada penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Elisha IL, Botha FS, McGaw LJ, Eloff JN. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017;17(1):133.
2. CDC Indonesia. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in Indonesia. Cdc. 2020;(Cdc).
3. World Health Organization. Antimicrobial resistance [Internet]. 2018 [cited 2020 May 14]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
4. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-resistant *staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 2018;31(4):1–103.
5. Singh SB BJ. Empirical antibacterial drug discovery — Foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology*. 2006;71(7):1006–15.
6. Cytryn E, Markiewicz Z, Popowska M. Antibiotics and antibiotics resistance genes dissemination in soils. In: Hashmi, M., Strezov, V., Varma, A. (eds) *Antibiotics and antibiotics resistance genes in soils*. *Soil Biology*, vol 51. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66260-2_9. p. 151–90.
7. Akilandeswari P, Pradeep B V. Exploration of industrially important pigments from soil fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016;100(4):1631–43.
8. Vanegas J, Muñoz-García A, Pérez-Parra KA, Figueroa-Galvis I, Mestanza O, Polanía J. Effect of salinity on fungal diversity in the rhizosphere of the halophyte *Avicennia germinans* from a semi-arid mangrove. *Fungal Ecology*. 2019;42:1–9.
9. Sanka Loganathachetti D, Poosakkannu A, Muthuraman S. Fungal community assemblage of different soil compartments in mangrove ecosystem. *Scientific Reports* [Internet]. 2017;7(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-09281-3>
10. Alshaili, S. A. dan B. M. Bani-Hasan. Morphological and molecular identification of fungi isolated from different environmental sources in the northern eastern desert of Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2018;1(3):329–337.
11. Kawaguchi, M., K. Nonaka, R. Masuma, dan H. Tomoda. New method for isolating antibiotic-producing fungi. *Journal of Antibiotics*. 2013;66(1):17–21.
12. Harborne, J. B. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Bandung. 2006.
13. CLSI. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard — Ninth Edition*. 2012;32.
14. Paulsen I. T. HAJ. methods for isolation and cultivation of filamentous fungi. In: *Environmental Microbiology: Methods and Protocols*. 2014; 2–6.
15. Gorthi LV. Morphological classification of fungal infections (Yeasts, Mold, Dimorphic). *Fungal Infections of the Central Nervous System*. 2019;23–30.
16. Nurcholis M, Fernando D, Zubaidah E. MJ. Isolation and identification of thermotolerant and ethanol-tolerant yeast on Indonesian local fruits. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2020;8(3):122–33.
17. Phale S. Yeast: Characteristics and economic significance. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*. 2018;08(05):8–10.
18. Sara Ramírez R, Arias M. JD, Bedoya JC, Rueda L. EA, Sánchez CY, Granada G. SD. Metabolitos producidos por microorganismos antagonistas son capaces de inhibir in vitro los principales patógenos del aguacate. *Agronomía Colombiana*. 2015;33(1):58–63.
19. Lindskog EK. The upstream process: principal modes of operation. In: *Biopharmaceutical processing: development, design, and implementation of manufacturing processes*. Development, design, and implementation of manufacturing processes. 2018;625–35.
20. Ramirez Ronda CH, Holmes RK, Sanford JP. Effects of divalent cations on binding of aminoglycoside antibiotics to human serum proteins and to bacteria.

- Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1975;7(3):239–45.
21. Communities TC of TE. Establishing requirements determination of the levels of dioxins and dioxin-like pebs in feedingstuffs. Official Journal of the European Communities. 2002;15–21.
22. Timm, M., L. Saaby, L. Moesby, dan E. W. Hansen. Considerations regarding use of solvents in in vitro cell based assays. Cytotechnology. 2013;65(5):887–894.
23. Swapna PK, Lalchand PD. Fungal biodiversity of a library and cellulolytic activity of some fungi. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016;78(6):849–54.
24. Liu YJ, Zhang JL, Li C, Mu XG, Liu XL, Wang L, et al. antimicrobial secondary metabolites from the seawater-derived fungus *Aspergillus sydowii* SW9. Molecules. 2019;24(24):4–11.
25. Zengin, H., Baysal A. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. Molecules. 2014;11:17773–98.
26. Pinheiro, E. A., Carvalho, J.M., Dos Santos, D.C., Feitosa, A. D. dkk. Antibacterial activity of alkaloids produced by endophytic fungus *Aspergillus* sp. EJC08 isolated from medical plant *Bauhinia guianensis*. Natural Product Research. 2013;27(18):1633–8.
27. Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. International Journal of Antimicrobial Agents [Internet]. 2014 [cited 2020 May 14];44(5):377–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>



Formulasi Sediaan Minuman Serbuk Fungsional Kombinasi Biji Jagung (*Zea mays* L.) dan Madu

*Formulation of Functional Powdered Beverage Dosage Form A Combination of Corn Kernels (*Zea mays* L.) and Honey*

Sheila Meitania Utami*, Nurwulan Adi Ismaya, Tri Okta Ratnaningtyas, Nanang Yunarto

Jurusan Farmasi, STIKes Widya Dharma Husada Tangerang, Indonesia

*E-mail: sheilameitaniautami@wdh.ac.id

Kata kunci:

Biji Jagung;
Formulasi; Granul;
Madu;
Nutraseutikal

Keywords:

Corn kernels;
Formulation;
Granules; Honey;
Nutraceutical

Received:

31-10-2021

Revised:

18-03-2022

Accepted:

13-05-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(2):109-117

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.5536>

Abstrak

Jagung merupakan bahan makanan yang mengandung karotenoid yang sangat potensial dalam mencegah kanker, menambah daya tahan tubuh, sebagai antivirus, jamur, dan parasit, karotenoid juga baik untuk penglihatan, pertumbuhan dan reproduksi. Senyawa karotenoid di dalam jagung yang paling tinggi adalah lutein yang memiliki potensi sebagai imunomodulator. Madu juga bersifat imunomodulator yaitu dengan cara memicu makrofag untuk menghasilkan sitokin yang terlibat untuk membunuh bakteri dan perbaikan jaringan. Kombinasi jagung dan madu dalam satu minuman akan menghasilkan sediaan suplemen kesehatan yang mengandung antioksidan dan imunomodulator yang baik untuk kesehatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan formula terbaik granul instan secara fisik. Granul instan dibuat dari bahan sari biji jagung yang telah dikeringkan dengan kombinasi madu yang diproses secara granulasi kering dengan variasi biji jagung FI & FIV (15%), FII & FV (25%), FIII & FVI (35%), dan madu FI & FIV (35%), FII & FV (25%), FIII & FVI (15%). Granul instan dilakukan evaluasi uji fisik meliputi uji organoleptis, waktu alir, sudut diam, indeks kompresibilitas, waktu larut, distribusi partikel, pH, viskositas terekonstitusi dan uji AKG. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji waktu alir, sudut diam, indeks kompresibilitas, waktu larut, distribusi partikel granul, pH dan viskositas terekonstitusi secara keseluruhan menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata, kecuali terhadap parameter rasa yang paling disukai yaitu FVI. Sehingga diperoleh formulasi yang paling baik yaitu FVI yang menunjukkan hasil Uji AKG dengan energi total 350 kkal/100 gram.

Abstract

Corn is a food ingredient that contains carotenoids that are very potential in preventing cancer, adding endurance, as antivirals, fungi, and parasites, carotenoids are also good for vision, growth and reproduction. The highest carotenoid compound in corn is lutein which has potential as an immunomodulator. Honey is also immunomodulatory by triggering macrophages to produce cytokines involved in killing bacteria and tissue repair. The combination of corn and honey in one drink will produce a health supplement preparation that contains antioxidants and immunomodulators that are good for health. The goal of this study was to get the best formula of instant granules physically. Instant granules are made from corn kernels that have been dried with a combination of honey which is processed by dry granulation with variations of corn kernels FI & FIV (15%), FII & FV (25%), FIII & FVI (35%), and FI & FIV honey (35%), FII & FV (25%), FIII & FVI (15%). Instant granules are conducted physical test evaluations including organoleptic tests, flow time, angle of repose, compressibility index, time of granules to dissolve, particle distribution, pH, viscosity of reconstituted and RDA test. The results showed that the granule flow time, angle of repose, compressibility index, time of granules to dissolve, granules particle distribution and viscosity of reconstituted overall physical testing showed no noticeable differences, except against the most preferred taste parameters FVI. So the best formulation has obtained is FVI and shows the result of the RDA test with total energy of 350 kkal/100 grams.

PENDAHULUAN

Berbagai penyakit semakin berkembang di dunia, penyakit tidak menular menjadi penyebab kematian pertama, 68% penyebab kematian di dunia bersumber dari penyakit tidak menular.¹ Selain penyakit tidak menular, masalah kesehatan terkini adalah adanya wabah COVID-19 yang diumumkan oleh WHO sebagai pandemi. Lebih dari 105 negara, 114.253 kasus, dan berkisar 4000 kasus kematian karena pandemi ini.² Di Indonesia, 63% kematian berasal dari penyakit tidak menular, sedangkan untuk pandemi COVID-19 Pemerintah telah membuat level status darurat tercatat dari tanggal 29 Februari 2020.³ Data per 25 Oktober 2020 tercatat sebanyak 385.980 kasus terkonfirmasi dengan 13.205 pasien meninggal.⁴

Menanggapi keadaan tersebut, maka masyarakat perlu menjaga kesehatan, salah satu diantaranya adalah dengan mengonsumsi sediaan yang mengandung antioksidan dan imunomodulator. Antioksidan terdapat dalam jagung, sedangkan imunomodulator terdapat dalam madu. Jagung mengandung karotenoid yang sangat berpotensi dalam mencegah kanker, menambah daya tahan tubuh, sebagai antivirus, jamur, dan parasit, karotenoid juga baik untuk penglihatan, pertumbuhan dan reproduksi. Jenis karotenoid yang penting bagi manusia yaitu α - dan β -karoten. β -karoten merupakan provitamin A atau retinol yang dapat diubah menjadi vitamin A oleh tubuh. Vitamin A merupakan zat gizi esensial yang membantu pertumbuhan dan pembentukan jaringan tubuh, pembentukan tulang dan gigi, daya tahan tubuh dan membentuk jaringan mata. α -karoten juga merupakan karotenoid provitamin A yang berpotensi sebagai antioksidan, mengurangi risiko kerusakan hati, paru-paru dan kulit. Jagung memiliki kadar karotenoid 1,433 mg/g dengan fraksi n-heksan.⁵ Senyawa karotenoid di dalam jagung yang paling tinggi adalah lutein. Lutein diketahui memiliki potensi sebagai

imunomodulator yang bersifat imunostimulan yang dapat meningkatkan fungsi sistem imun.⁶

Madu memiliki unsur dengan sifat bakterisidal dan bakteriostatik. Madu juga bersifat imunomodulator dengan cara menstimulasi makrofag untuk menghasilkan sitokin yang bekerja mematikan bakteri dan membangun ulang jaringan. Madu memiliki daya hambat terhadap bakteri.⁷ Pemberian madu hutan pada hewan uji (tikus jantan galur Wistar) dapat mempengaruhi proliferasi limfosit pada hewan uji, berupa peningkatan proliferasi limfosit yang signifikan ($p > 0,05$) dibanding kontrol negatif.⁸

Nutrasetikal secara umum diketahui sebagai pangan fungsional, *medical foods*, *functional food*, *pharmafoods* dan *nutritional supplement*, yang diartikan sebagai bahan alam dalam keadaan murni atau pekat, atau juga senyawa kimia bioaktif yang memiliki efek meningkatkan kesehatan, mencegah penyakit atau menyembuhkan penyakit. *Health supplement* atau suplemen kesehatan merupakan produk untuk melengkapi zat gizi pangan yang terdapat satu atau dua lebih subjek seperti vitamin, mineral, asam amino atau unsur lain yang bersumber dari tumbuhan atau non tumbuhan yang memiliki nilai gizi atau efek fisiologis dalam angka yang terkonsentrasi atau terpusat. Suplemen bisa berbentuk dalam sediaan pil, tablet, serbuk, granul, setengah padat dan cairan yang tidak diperuntukkan untuk bahan pangan.⁹

Kepraktisan dan kemudahan dalam penggunaan merupakan kelebihan sediaan granul dibandingkan bentuk sediaan suplemen lainnya. Bentuk fisik dan kimia granul biasanya lebih stabil daripada serbuk. Granul biasanya lebih tahan terhadap pengaruh udara. Selama proses granulasi lebih mudah dibasahi oleh pelarut daripada beberapa macam serbuk yang cenderung akan mengembang di atas permukaan pelarut, sehingga granula lebih disukai untuk digunakan sebagai larutan.⁹

Penambahan rempah ke dalam formulasi minuman untuk menambah nilai rasa sensori yang lebih tinggi. Bentuk penyajian produk granul nutrasetikal dengan cara diseduh merupakan suatu pilihan alternatif untuk mendapatkan khasiat dari sari biji jagung. Serta dengan penambahan madu sebagai alternatif pemanis, bahan pengawet dan imunomodulator.

METODE

Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental. Tahapan pertama yaitu membuat formulasi sediaan granul instan kombinasi biji jagung (*Zea mays* L.) dan madu dalam 2 variasi rasa, kemudian dilakukan evaluasi fisik sediaan. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – Agustus.

Bahan

Bahan–bahan yang digunakan antara lain: biji jagung (*Zea mays* L.), madu, Maltodekstrine, CMC-Na, PVP-K30, essence vanilla, Sodium Starch Glicolat

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu pisau *stainless steel*, panci email, pengukus alumunium, kompor gas, *blender*, saringan alumunium dan kain saring halus, alumunium foil, mortir, stamper, kertas perkamen, gelas ukur (pyrex), *beaker glass* 100ml (Iwaki) 500ml (Iwaki) 1000ml (Iwaki), flow tester, *Brookfield* (DVE *Viscometer*), pH meter, timbangan digital (FSR-A220), *Shive shaker* (MAS 208 S), batang penagduk, sudip, spatula *stainless steel*, kaca arloji, mesin *spray dryer*, saringan mess 16, 18, 60, 80, 100, 120 (B-ONE).

Tabel 1. Formulasi granul instan fungsional kombinasi biji jagung (*Zea mays* L.) dan madu

Bahan	Formulasi (b/b %)						Fungsi
	FI	FII	FIII	FIV	FV	FVI	
Serbuk Biji Jagung	15	25	35	15	25	35	Zat Aktif
Serbuk Madu	35	25	15	5	25	15	Zat Aktif
Maltodekstrine	35	35	35	35	35	35	Pengisi
CMC-Na	1	1	1	1	1	1	Pengental
PVP-K30	5	5	5	5	5	5	Pengikat
Essence Original	0	0	0	–	–	–	Flavouring Agent
Essence Vanilla	–	–	–	5	5	5	Flavouring Agent
Sodium Starch Glicolat	4	4	4	4	4	4	Disintegrant

Prosedur Kerja

Pembuatan sari biji jagung (*Zea mays* L.)

Sari jagung manis dibuat dengan langkah–langkah sebagai berikut : jagung manis segar yang diperoleh dari petani dipisahkan klobotnya dan dicuci sampai bersih. Kemudian dikukus selama ± 15 menit. Biji jagung manis hasil pengukusan dipisahkan dari tongkolnya dengan cara disisir dengan pisau *stainless steel*. Penyisiran biji jagung dilakukan setelah pengukusan untuk semaksimal mungkin manis encer kemudian disaring dengan saringan aluminium dan dilanjutkan dengan kain saring halus. Sari jagung manis yang

mendapatkan sari jagung. Apabila biji jagung manis mentah disisir terlebih dahulu sebelum dikukus maka sari jagung yang diperoleh relatif sedikit, karena sebagian sari jagung keluar dari biji dan menetes sehingga hilang saat pengukusan berlangsung.

Biji jagung manis kemudian dihancurkan dengan *blender* pada kecepatan maksimal (skala 3) selama ± 5 menit dengan ditambah air matang menurut perbandingan air dan biji jagung 1:1 (v/b) agar menghasilkan bubur jagung manis encer. Bubur jagung diperoleh di pasteurisasi dalam panci email pada suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama ± 15 detik.¹⁰

Pembuatan serbuk sari biji jagung

Maltodekstrin 4kg ditambahkan dengan sari jagung 23,68kg di dalam *automatic mixing control* 1 dengan suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$. Penambahan jumlah binder didasarkan atas percobaan *trial* PT. Fits Mandiri Bogor. Setelah itu campuran tersebut diproses ke dalam *automatic mixing control* 2 untuk menyalurkan suspensi sari jagung manis untuk dikeringkan dengan alat PLC *spray dryer* pada suhu *inlet* 160°C dan suhu *outlet* 60°C dengan Nozzle Flow 300Hz dan kecepatan aliran masa (*feed pump*) 25Hz (Metode PT.Fits Mandiri Bogor).

Pembuatan sediaan granul instan fungsional

Sampel penelitian berupa serbuk sari biji jagung dengan konsentrasi FI & FIV (15%), FII & FV (25%), FIII & FVI (35%) dan serbuk madu dengan konsentrasi FI & FIV (35%), FII & FV (25%), FIII & FVI (15%) yang diformulasikan dengan bahan-bahan yang terdiri dari maltodekstrin, CMC-Na, PVP-K30, vanilla essence, Sodium Starch Glicolat sesuai formulasi. Masing-masing serbuk simplisia dan bahan tambahan lainnya ditimbang sesuai dengan formulasi yang telah ditentukan. Kemudian, dicampur sampai homogen. Setelah itu diayak dengan ayakan mesh 16. Dikeringkan dalam oven (40°C). Selama proses pengeringan serbuk dibolak-balikkan. Setelah mencapai kepadatan yang tepat campuran serbuk dikeluarkan, dibuat granul dengan ayakan mesh 18. Granul dikeringkan dalam oven suhu 40°C .¹¹

Evaluasi fisik sediaan granul

Organoleptis

Evaluasi organoleptis dilakukan dengan pengamatan secara visual terhadap sediaan granul instan yang didapatkan melalui bentuk, warna, rasa dan bau sediaan granul instan fungsional.¹²

Waktu alir

Sifat alir granul dapat ditentukan melalui tes kecepatan alir dengan

menggunakan alat *flow tester*, pengujian aliran granul dengan cara menimbang 100g granul ke dalam alat tester hingga granul melewati corong. Kemudian dihitung waktunya dan dilakukan perhitungan sebanyak 1 kali. Selain itu dilakukan pencatatan tinggi timbunan atau tumpukan granul yang telah melewati corong dengan mengukur diameter alas kerucut timbunan berat cetak.⁹ Penghitungan daya aliran granul dilakukan menggunakan rumus:

$$F = \frac{M}{T}$$

Keterangan :

F = Daya Aliran (gram/detik)

M = Massa (gram)

T = Waktu (detik)

Evaluasi sudut diam diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\alpha = \tan^{-1} h/r$$

Keterangan :

α = sudut istirahat ($^{\circ}$)

h = tinggi timbunan (cm)

r = jari-jari timbunan (cm)

Indeks Kompresibilitas

Penentuan Indeks Kompresibilitas dimodifikasi dengan perlakuan sejumlah 25 gram sampel (M) dimasukkan ke dalam gelas ukur berukuran 50 mL, kemudian diukur volume (V bulk) dari sampel tersebut. Gelas yang sudah terisi oleh sampel di ketuk sebanyak 500 kali, untuk menentukan hasil volume mampat (v mampat). Nilai indeks kompresibilitas dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:¹³

$$Bj \text{ mampat} = \frac{M}{V \text{ mampat}}$$

$$Bj \text{ bulk} = \frac{M}{V \text{ bulk}}$$

Indeks Kompresibilitas (%)

$$= \frac{Bj \text{ Mampat} - Bj \text{ Bulk} \times 100\%}{Bj \text{ Mampat}}$$

Waktu larut

Uji waktu larut dimodifikasi dengan menimbang sebanyak 12 gram granul. Selanjutnya granul dilarutkan ke dalam 100 mL air. Kemudian dihitung kecepatan melarutnya dengan stopwatch. Syarat waktu larut granul kurang dari 5 menit. Air yang digunakan berupa air dingin dengan pengadukan secara terus menerus saat granul dilarutkan.¹³

Uji distribusi partikel

Pengukuran distribusi ukuran partikel granul dimodifikasi dilakukan dengan menggunakan ayakan mesh 60, 80, 100, 120. Sejumlah 100 gram granul digetarkan dengan alat *sieve shaker* dengan waktu 10 menit. Bobot granul yang tertinggal di masing-masing pengayak ditimbang untuk menentukan distribusi ukuran partikel granul.¹²

Uji pH

Penentuan pH dimodifikasi dengan melarutkan 12 gram granul dalam 100 mL air. Selanjutnya, pH diukur pada suhu ruang dengan menggunakan digital pH-meter yang telah dikalibrasi.¹⁴

Viskositas Rekonsitusi

Uji viskositas dimodifikasi sesuai alat dengan granul 48 gram yang telah dicampur dengan air (besaran sampel 400mL) lalu diamati dengan menggunakan alat Viskometer Brookfield.¹²

Uji angka kecukupan gizi (AKG)

Uji AKG dilakukan di PT. Vicma Lab Indonesia dengan menganalisa hasil proksimat sediaan granul instan yang paling baik dan paling diminati dengan menggunakan metode SNI 01-2891-1992.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari evaluasi sifat fisik granul (Tabel 2) dimana sifat alir granul adalah skala kritis untuk mencari kesamaan kandungan sediaan dan digunakan untuk menentukan kemampuan granul Hasil evaluasi indeks kompresibilitas granul termasuk kategori bahan yang alirannya sangat buruk dan. kemungkinan

dimasukkan ke dalam kemasan.¹² Waktu alir dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, porositas, densitas dan gaya gesek antar partikel granul. Sifat alir yang baik akan memudahkan granul memasuki ruang cetakan sehingga keseragaman bobot dapat terjaga baik.¹⁵ Granul dikatakan memiliki sifat alir yang bebas mengalir jika kecepatan alirnya $>10\text{g/detik}$, 4-10 mudah mengalir, 1,4-4 kohesif, $<1,4$ sangat kohesif.¹⁶ Hasil evaluasi karakteristik waktu alir dan sudut diam pada masing-masing formula menunjukkan bahwa FI (33g/detik , $19,39^0$), FII (20g/detik , $23,62^0$), FIII (25g/detik , $24,98^0$), FIV (33g/detik , $20,55^0$), FV (33g/detik , $20,55^0$) dan FVI (20g/detik , $14,03^0$) termasuk kategori bebas mengalir.¹⁶

Hasil evaluasi sudut diam keenam formula granul memberikan hasil granul yang memiliki sifat aliran yang sangat baik.¹⁶ Sifat alir yang baik di artikan sebagai kemampuan partikel agar tidak mengalami konsolidasi atau pengumpulan dan dapat mengalir dengan di bantu oleh gaya gravitasi. Kenaikan sifat alir granul di tentukan banyak faktor seperti ukuran partikel, bentuk partikel, morfologi permukaan partikel dan gaya yang berubah pada permukaan.¹² Adapun kategori sifat aliran dan keterikatan dengan sudut diam yaitu sifat aliran yang sangat baik ($<25^0$), baik ($25-30^0$), cukup ($30-40^0$), sangat buruk ($>40^0$).¹⁶

Uji indikator pemampatan adalah proses pengukuran kekuatan “jembatan” serbuk (*power bridge strength*) dan kestabilan. Nilai indikator pemampatan yang memiliki hasil rendah dari bahan dapat diartikan sebagai sifat aliran yang lebih baik dibandingkan nilai indikator pemampatan yang tinggi. Nilai indeks kompresibilitas kurang dari 10% menunjukkan aliran yang sangat baik, sedangkan apabila lebih dari 38% menunjukkan aliran yang sangat buruk.¹³

Penyebab dari nilai indeks kompresibilitas yang menunjukkan aliran yang sangat buruk karena granul yang

dihasilkan terlalu halus dengan ukuran 125 μ m.

Hasil evaluasi uji waktu larut (Tabel 2) menunjukkan waktu larut 1-5 menit sehingga menunjukkan syarat waktu melarut. Syarat waktu melarut yang baik adalah kurang dari 5 menit.¹³ Hal tersebut kemungkinan karena bahan yang digunakan memiliki karakteristik mudah larut dalam air.

Hasil evaluasi distribusi ukuran partikel menunjukkan bahwa proporsi partikel dengan rasio terbesar terdapat pada ayakan nomor 120, sehingga dapat diartikan granul memiliki ukuran partikel 125 μ m dan termasuk kategori serbuk sangat halus. Hal tersebut dapat disebabkan karena bahan baku yang digunakan sudah berukuran halus. Ukuran granul yang dihasilkan pada proses granulasi perlu adanya peningkatan dan keseragaman. Agar tercapai tujuan tersebut maka pengikat PVP-K30 pada formulasi granul dengan metode granulasi kering perlu untuk ditingkatkan jumlahnya atau dikombinasi dengan pengikat lain untuk mendapatkan ukuran partikel yang lebih baik.¹²

Uji pH perlu dilakukan karena jika larutan granul yang terbentuk terlalu asam dapat mengiritasi lambung, sedangkan jika terlalu basa menimbulkan rasa pahit dan tidak enak. Berdasarkan derajat keasaman, bahan pangan dapat digolongkan ke dalam tiga kelompok, yaitu (1) bahan pangan berasam rendah dengan kisaran pH 5,3-4,5; (2) bahan pangan berasam dengan kisaran pH 4,5—3,7 dan (3) bahan pangan berasam tinggi dengan nilai pH di bawah 3,7.¹⁴ Hasil uji pH pada masing-masing formula granul instan termasuk ke dalam kategori berasam rendah sehingga sediaan granul tersebut aman untuk dikonsumsi.¹⁴ Sebagian besar produk makanan dan minuman memiliki sifat alir non-newtonian.¹² Kekentalan produk minuman maksimal adalah 31,6 poise. Adanya peningkatan viskositas pada produk minuman pada umumnya tidak disukai konsumen.

Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan suatu sediaan.¹⁷ Hasil uji viskositas terekonstitusi menggunakan spindle 61 menunjukkan 50–100 rpm hasil cP FI (65,64–58,20); FII (45,12–39,72); FIII (38,76–34,32) FIV (44,28–29,70), FV (47,28–38,34), FVI (51,84–42,48). Spindle 62 menunjukkan pada 50–100 rpm hasil cP FI (42,00–38,91), FII (51,00–48,90), FIII (51,00–48,00), FIV (45,00–37,80), FV (51,60–49,50), FVI (51,60–49,50). Hal tersebut kemungkinan dari jumlah PVP-K30 yang digunakan terlalu besar.

Hasil uji AKG dengan menggunakan metode SNI 01-2891-1992 di PT. Vicma Lab Indonesia menunjukkan hasil data proksimat (Tabel 3 & Tabel 4).



(a)



(b)

Gambar 1. Hasil formulasi granul instan fungsional sebelum dioven (a) dan sesudah dioven (b)

Tabel 2. Hasil evaluasi fisik granul instan fungsional kombinasi biji jagung (*Zea mays* L.) dan madu

Parameter	Hasil						Persyaratan (Referensi)
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4	Formula 5	Formula 6	
Organoleptis	warna putih, bentuk granul, bau khas jagung, rasa sangat hambar	warna agak kuning, bentuk granul, bau khas jagung, rasa hambar	warna kuning, bentuk granul, bau khas jagung manis, rasa manis	warna putih, bentuk granul, bau vanilla, rasa vanilla	warna agak kuning, bentuk granul, bau vanilla, rasa vanilla	warna agak kuning, bentuk granul, bau vanilla dan rasa vanilla	
Waktu Alir	33 g/detik	20 g/detik	25 g/detik	33 g/detik	33 g/detik	20 g/detik	> 10 g/detik
Sudut Diam	19,39 ⁰	23,62 ⁰	24,98 ⁰	20,55 ⁰	20,55 ⁰	14,03 ⁰	<25 ⁰
Kompresibilitas	41,10%	36,70%	38,20%	39,00%	39,00%	39,00%	<10%
Waktu Larut	1 menit	3 menit	5 menit	4 menit	3 menit	5 menit	≤5 menit
pH	5,83	5,64	5,32	5,48	5,36	5,26	3,7 – 5,3
Viskositas	65,64-58,20	45,12-39,72	38,76-34,32	44,28-29,70	47,28-38,34	51,84-42,48	
Terekonstitusi	42,00-38,91	51,00-48,90	51,00-48,00	45,00-37,80	51,60-49,50	51,60-49,50	

Tabel 3. Laporan hasil pengujian uji AKG

Jenis Analisis	Satuan	Hasil Analisis	Metode
Proksimat			
Air	%	13.96	SNI 01-2891-1992
Abu	%	1.24	
Protein	%	8.73	
Lemak	%	1.37	
Karbohidrat	%	74.70	

Tabel 4. Hasil analisis uji AKG

INFORMASI NILAI GIZI		
Ukuran porsi : 100 gram (g)		
Energi Total		350 kkal
Energi dari Lemak		10 kkal
	Per Porsi	%AKG*
Lemak Total	1 g	2 %
Protein	9 g	15 %
Karbohidrat Total	75 g	23 %
* % AKG berdasarkan kebutuhan energi 2159 kkal.		
Kebutuhan energi anda mungkin lebih tinggi atau lebih rendah.		

KESIMPULAN

Formulasi sediaan granul instan fungsional yang mengandung serbuk sari biji jagung dan madu dibuat 2 varian rasa yaitu original dan vanila yang paling baik berdasarkan uji organoleptis menunjukkan bahwa formula berpengaruh nyata terhadap bau dan rasa dan tidak ada perbedaan yang nyata pada evaluasi fisik granul yang meliputi uji waktu alir, uji sudut diam, uji indeks kompresibilitas, uji waktu larut, uji distribusi partikel, uji pH dan uji viskositas terekonstitusi. Bau dan rasa granul instan yang disukai adalah Formula VI. Formula VI dengan formula terbaik dimana memiliki kombinasi jagung dan madu dalam satu minuman granul sediaan nutrasetikal suplemen kesehatan yang menunjukkan hasil uji AKG sebesar 350 kkal/gram.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih peneliti ucapkan kepada Kemenristekdikti yang sudah mendanai penelitian ini dan kepada STIKes Widya Dharma Husada Tangerang yang sudah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- Jayedi A, Rashidy-Pour A, Parohan M, Sadat Zargar M, Shab-Bidar S. Dietary antioxidants, circulating antioxidant concentrations, total antioxidant capacity, and risk of all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *Advances In Nutrition*. 2018;9(6):701–16.
- Hu Y, Sun J, Dai Z, Deng H, Li X, Huang Q, Wu Y, Sun L, Xu Y. Prevalence and severity of corona virus disease 2019 (covid-19): a systematic review and meta-analysis. *journal of clinical virology*. 2020; 127,104371: 1-7.
- Kemenkes Ditjen P2P. P2ptm_Rak2017. (N.D.). Kemenkes Dp Dan Pp. P2ptm_Rak2017.Pdf. 2017:1-37. 2017. Retrieved August 6, 2021.
- Purnamasari I, Raharyani AE. Tingkat Pengetahuan dan perilaku masyarakat kabupaten wonosobo tentang covid -19. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2020;10(1):33–42.
- Sembiring E, Sangi MS, Suryanto E. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi dari biji jagung (*Zea Mays* L.). *Chemistry Progress*. 2019;9(1):14-20.
- Gangga E, Prasetya Y. Uji Aktivitas imunomodulator ekstrak lutein dari biji jagung manis (*Zea Mays* L.) melalui pengukuran aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum mencit secara in vivo. Universitas Pancasila. 2015. Jakarta. <https://perpus.univpancasila.ac.id/>
- Wineri E, Rasyid R, Alioes Y. Perbandingan daya hambat madu alami dengan madu kemasan secara in vitro terhadap *Streptococcus Beta Hemoliticus* group a sebagai penyebab faringitis. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2014;3(3):376-80.
- Senas KS, Linawati Y. Pengaruh pemberian madu hutan terhadap proliferasi limfosit pada hewan uji tikus jantan galur wistar. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 2012;9 (2):85-90.
- Miranti M, Andini S, Lohitasari B. Formulasi suplemen kesehatan granul instan berbahan baku terong belanda. *fitofarmaka. Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2016;6(2):88–94.
- Sutardi, Hadiwiyoto S, Murti CRN. Pengaruh dekstrin dan gum arab terhadap sifat kimia dan fisik bubuk sari jagung manis (*Zeamays Saccharata*) *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2010;21(2):102–7.
- Anam C, Kawiji, Setiawan RD. Kajian karakteristik fisik dan sensori serta aktivitas antioksidan dari granul effervescent buah beet (*Beta Vulgaris*) dengan perbedaan metode granulansi dan kombinasi sumber asam. *Jurnal Teknosains Pangan*. 2013;2 (2):21-8.
- Rani KC, Parfati N, Muarofah D, Sacharia SN. Formulasi granul effervescent herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan variasi suspending agent xanthan gum, cmc-na, dan kombinasi cmc-na-mikrokristalin selulosa rc-591. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2020;7(1):39-51.
- Husni P, Fadhiilah ML, Hasanah U. Formulasi dan uji stabilitas fisik granul instan serbuk kering tangkai genjer (*Limnocharis Flava* (L.) Buchenau.) sebagai suplemen. *Jurnal Ilmiah Farmasi*

- Farmasyifa. 2020;3(1): 1-8.
14. Nawatila R, Nabilla DA, Oktaviani FL, Efendi RN, Anjarsari AAK, Tanuwijaya CD, Pradana AT. Pengembangan granul herbal kumis kucing, temulawak, dan pegagan dengan pengisi maltodextrine dan spray dried lactose. Media Pharmaceutica Indonesiana. 2020;3(1):1-9.
 15. Rahmawati IF, Pribadi P, Hidayat IW. Formulasi Dan evaluasi granul effervescent ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.). Pharmacia. 2016;6(2):139–48.
 16. Sihombing G. Formulasi granul ekstrak daun mekai (*Alburtisia papuana* Becc.) sebagai penyedap rasa pada makanan [Skripsi]. Samarinda: Universitas Mulawarman; 2019.
 17. Fatimah F, Rorong J, Gugule S. Stabilitas dan viskositas produk emulsi virgin coconut oil-madu [The Stability and Viscosity of Virgin Coconut Oil-Honey Emulsion]. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 2012;23(1):75-80.

Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu untuk Mencegah Peningkatan pH Vagina setelah Ovariektomi Bilateral pada Tikus Wistar***The Ethanol Extract of Purple Sweet Potato to Prevent pH Elevation of Vaginal Following Bilateral Ovariectomy in Wistar Rats*****I Wayan Sugiritama*, I Gusti Nyoman Sri Wiryawan, Ni Made Linawati, Ida Ayu Ika Wahyuniari, I Gusti Ayu Dewi Ratnayanthi, I Gusti Nyoman Kamasan Arijana**

Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia

*E-mail: sugiritamafk@unud.ac.id

Kata kunci:
Fitosteroid;
Menopause;
Ovariektomi; pH
Vagina; Ubi Jalar
Ungu**Keywords:**
Phytoestrogen;
Menopause;
Ovariectomy;
Vaginal pH;
Purple sweet
potato**Received:**
18-11-2021
Revised:
26-07-2022
Accepted:
18-08-2022**Jurnal Kefarmasian
Indonesia,**
2022;12(2):118-127**DOI:**
<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.5641>**Abstrak**

Atrofi vagina merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang paling banyak dikeluhkan oleh wanita pascamenopause. Pada kondisi ini jumlah lapisan dan indeks maturasi sel epitel vagina akan berkurang, serta terjadi peningkatan pH vagina. Penurunan tingkat keasaman vagina menyebabkan wanita menopause lebih rentan terhadap infeksi vaginal, karena pH asam sangat penting untuk melindungi vagina dari patogen. Pemberian fitosteroid terbukti efektif untuk memperbaiki struktur histologi vagina dan mengurangi keluhan urogenital termasuk mampu memperbaiki pH. Ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.) banyak dibudidayakan di Bali, memiliki kandungan antosianin cukup tinggi, dan sudah diketahui memiliki aktivitas fitosteroid. Pada penelitian ini akan dievaluasi pengaruh pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu terhadap pH vagina hewan model menopause. Penelitian ini memakai rancangan *randomized pre-test post-test control group design*, memakai 36 ekor tikus Wistar betina yang diovariektomi bilateral sebagai hewan model menopause. Hewan model secara random dibagi menjadi kelompok kontrol (T0) yang diberikan saline dan kelompok perlakuan (T1) yang diberi ekstrak etanol ubi jalar ungu 400 mg/hari selama 30 hari. Tingkat keasaman (pH) vagina diukur sebelum perlakuan, tiap minggu selama perlakuan dan setelah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok T0 terjadi peningkatan pH Vagina mulai minggu ke-2, minggu ke-3 dan pada akhir penelitian ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok T1. Disimpulkan bahwa ekstrak etanol ubi jalar ungu efektif mencegah peningkatan pH vagina setelah ovariektomi bilateral pada tikus Wistar.

Abstract

Vaginal atrophy is one of the most common health problems in postmenopausal women. The disease is characterized by decreasing layers and maturation index of the vaginal epithelium and an increase in vaginal pH. A decrease in vaginal acidity will increase the susceptibility to infections since acidic pH protects the vagina from pathogens infection. The previous study has proven that phytoestrogens were effective to improve the microstructures of the vaginal, reduce urogenital complaints, and improve vaginal pH. The purple sweet potato (*Ipomea batatas* L.) which is cultivated in Bali was recognized for its high anthocyanin content and was reported to have phytoestrogen activity. The aim of the present study is to evaluate the effect of purple sweet potato on vaginal pH in an animal model of menopause. The randomized pre-test post-test control group design study was conducted using 36 bilateral ovariectomized female Wistar rats as an animal model of menopause. The animals were divided randomly into a control group (T0) which was given saline and a treatment group (T1) given an ethanolic extract of purple sweet potato 400 mg/day for 30 days. Vaginal pH was measured before treatment, every week during treatment, and after treatment. The result of the study showed that there was an increase in vaginal pH of the T0 on the 2nd and 3rd week, and after treatment ($P < 0.05$), compared to T1. In conclusion, the ethanol extract of purple sweet potato was effective to prevent an increase vaginal pH following ovariectomy in wistar rats.

PENDAHULUAN

Struktur dan fungsi organ genital wanita selama usia reproduksi dijaga oleh kadar hormon estrogen yang memadai. Pada kondisi kadar hormon estrogen yang normal, mukosa vagina dilapisi oleh epitel yang cukup tebal dengan jenis epitel berlapis pipih tanpa keratin. Sel-sel epitel memiliki kandungan glikogen yang secara teratur dilepaskan ke permukaan mukosa. Glikogen akan dimetabolisme oleh mikroba golongan *Lactobacillus* yang hidup secara komensal di mukosa vagina dengan menghasilkan produk asam laktat. Asam laktat yang terakumulasi di mukosa menyebabkan pH vagina relatif sangat asam, pH asam ini sangat penting perannya dalam melindungi vagina dari infeksi oleh bakteri patogen.¹

Wanita secara alamiah akan mengalami menopause pada rentang usia 45 hingga 55 tahun. Seorang wanita dinyatakan mengalami menopause jika tidak mengalami menstruasi secara alami minimal selama satu tahun.² Pada kondisi menopause terjadi penurunan kadar estrogen sistemik, yang akan mengakibatkan munculnya beberapa gejala klinis menopause.³ Salah satu gejala yang paling sering terjadi adalah atrofi vagina, yang dialami oleh lebih dari 50 persen wanita pascamenopause.⁴

Atrofi vagina pada masa menopause ditandai oleh beberapa perubahan pada organ vagina, antara lain: penyusutan dinding vagina, berkurangnya sabut elastik, penurunan vaskularisasi, penurunan lubrikasi, penurunan tebal epitel dan penurunan rasio antara sel superfisial dan sel basal yang disebabkan oleh penurunan proliferasi sel. Perubahan tersebut mengakibatkan mukosa vagina rentan mengalami kerusakan atau perdarahan saat aktivitas seksual. Penipisan sel epitel mengakibatkan berkurangnya pelepasan glikogen oleh epitel, sehingga aktivitas *Lactobacillus* menurun, yang kemudian menyebabkan pH menjadi lebih alkali. Peningkatan pH pada mukosa vagina menyebabkan wanita

menopause rentan mengalami infeksi yang disebabkan oleh patogen urogenital dan fekal.^{1,5,6} Selain kerentanan untuk infeksi di vagina, atrofi vagina menyebabkan beberapa gejala yang sangat mengganggu, seperti: iritasi pada area vulva, rasa sakit saat kencing, rasa kering, rasa panas dan bisa menyebabkan rasa nyeri ketika melakukan aktivitas seksual.⁷ Semua keluhan tersebut bisa menyebabkan perasaan khawatir ketika akan melakukan aktivitas seksual, yang kemudian bisa menyebabkan penurunan gairah seksual dan penurunan kualitas hidup.⁸

Penanganan gejala atrofi vagina dengan estrogen memberikan hasil yang baik termasuk dalam mengembalikan pH vagina ke pH normal,⁷ tetapi saat ini senyawa fitoestrogen juga banyak diteliti sebagai alternatif pengganti estrogen.⁹ Salah satu golongan fitoestrogen yang banyak dipelajari adalah golongan flavonoid. Flavonoid sudah banyak dibuktikan aktivitasnya sebagai fitoestrogen, senyawa ini memiliki struktur molekul mirip dengan estrogen, sehingga bisa menempel pada reseptor estrogen dan mampu menginduksi ekspresi *estrogen-responsive genes* dan memicu proliferasi sel.¹⁰ Penelitian pada hewan model menopause dan wanita menopause telah membuktikan efektivitas fitoestrogen untuk penanganan gejala atrofi vagina. Pemberian ekstrak *Pueraria mirifica* pada monyet menopause mampu meningkatkan proporsi sel superfisial, dan menurunkan pH vagina.¹¹ Pemberian ekstrak *Foeniculum vulgare* pada wanita menopause mampu meningkatkan proporsi sel superfisial terhadap sel basal dan parabasal, serta menurunkan pH vagina secara signifikan.¹²

Antosianin adalah salah satu sub-grup utama flavanoid, yang biasanya ditemukan pada tanaman yang memiliki warna merah, biru, dan ungu.¹³ Sebagaimana flavonoid lainnya seperti ekstrak blackcurrant¹⁴ dan anggur¹⁵, antosianin juga menunjukkan aktivitas sebagai fitoestrogen. Antosianin memiliki struktur mirip dengan estrogen

endogen, sehingga bisa menempel pada kedua jenis reseptor estrogen dan bisa memicu proliferasi sel.¹⁶

Ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.) yang secara luas dibudidayakan di Indonesia, termasuk di provinsi Bali telah diketahui memiliki kandungan antosianin yang tinggi.¹⁷ Karena kandungan antosianinnya, ubi jalar ungu terindikasi memiliki aktivitas fitoestrogen. Hasil penelitian sebelumnya menemukan bahwa ubi jalar ungu mampu memperbaiki ketebalan dan indeks maturasi sel epitel vagina¹⁸ dan mencegah perlemakan organ hati¹⁹ pada hewan model menopause. Pada penelitian ini aktivitas fitoestrogen ekstrak etanol ubi jalar ungu dievaluasi dengan mengukur perubahan pH vagina pada hewan model menopause.

METODE

Penelitian ini memakai disain *pretest-posttest control group design* dan merupakan penelitian jenis *true experimental*. Protokol penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana nomor 2124/UN14.2.2.VII.14/LP/2018.

Pemeliharaan hewan coba, perlakuan dan pengukuran pH dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Bali.

Alat dan bahan

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah kandang hewan coba, timbangan digital (Otsuka Series OSK 6000), set alat bedah minor, blender (Philips ME HR-2958), kain filter, *rotary evaporator* (Biobase RE-301), batang pengaduk, wadah tertutup, kapas, spuit 1 cc, warna standar pH, pH indikator (Merck). Bahan yang digunakan adalah umbi ubi jalar ungu kultivar Bali (*Ipomea batatas* L.) yang diperoleh dari petani di Kabupaten Tabanan Bali, tikus putih betina strain Wistar (*Rattus norvegicus*) yang didapat dari Unit Pemeliharaan Hewan Coba Laboratorium Biomedis Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, etanol 70

persen, pakan hewan coba, saline, air suling, dan gentamisin injeksi (Indofarma).

Prosedur kerja

Pembuatan ekstrak etanol ubi jalar ungu

Pembuatan ekstrak etanol umbi ubi jalar ungu dilakukan melalui prosedur sebagai berikut : umbi ubi jalar ungu hasil panen direndam dalam air bersih, kotoran pada kulit dibersihkan dan kemudian dikupas. Umbi ubi jalar ungu kemudian dipotong berbentuk kubus dengan ukuran 2-2,5 cm dan dihaluskan dengan blender. Setelah menjadi bubur halus kemudian ditambahkan etanol 70 % dengan jumlah 1 liter untuk setiap 1 kilogram umbi ubi jalar ungu. Campuran ini didiamkan selama 1x24 jam dalam wadah tertutup, kemudian dilakukan penyaringan dengan memakai tiga lapisan kain filter. Filtrat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan cairan pelarut dan mendapatkan ekstrak kental ubi jalar ungu. Saat pemberian perlakuan ekstrak kental dilarutkan dalam aquades.²⁰

Penyiapan hewan model menopause

Hewan model menopause yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 36 ekor tikus putih betina strain Wistar dengan umur antara 10-15 minggu dan berat badan antara 190-220 gram. Besar sampel ditentukan dengan formula Frederer dan didapatkan jumlah sampel minimal adalah 32 ekor. Karena perlakuan cukup lama (30 hari) maka sampel hasil perhitungan ditambahkan 4 ekor (10 persen) untuk mengantisipasi adanya *dropout*, sehingga didapatkan jumlah sampel total adalah 36 ekor. Sebelum dilakukan ovariectomi, hewan coba diberikan waktu selama 1 minggu untuk beradaptasi dengan lingkungan laboratorium. Hewan coba dipelihara dalam kandang komunal, pada ruangan yang memiliki suhu ruangan 24°C dan dengan siklus terang-gelap 12 jam. Selama pemeliharaan hewan coba diberi makan pellet standar hewan pengerat dan diberi akses air minum *ad libitum*. Hewan coba

yang dalam keadaan sehat setelah masa adaptasi kemudian dilakukan ovariectomi bilateral.

Tindakan ovariectomi bilateral dilakukan sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Ingle dan Griffith. Tikus dianestesi dengan injeksi ketamin dosis 40 mg/kgBB intramuskular. Bulu abdomen dicukur, dilakukan sterilisasi dengan savlon-betadine, kemudian ditutup dengan doek steril. Selanjutnya dilakukan insisi transabdominal kira-kira diatas uterus sepanjang 1,5 - 2 cm, lapis demi lapis sampai menembus dinding peritoneum. Langkah selanjutnya adalah menemukan uterus, kemudian dicari kornu uterus, oviduk, sampai ditemukan posisi ovarium kiri. Ovarium tampak seperti sekelompok anggur yang translusen. Oviduk dan ovarium dibebaskan dari jaringan lemak dan jaringan ikat sekitarnya, selanjutnya oviduk bagian distal diligasi kemudian ovarium dipotong dan diangkat. Prosedur yang sama dilakukan pada bagian ovarium kanan. Setelah pengangkatan ovarium, dilakukan eksplorasi untuk memastikan tidak ada perdarahan aktif, kemudian luka insisi di jahit lapis demi lapis.²¹ Setelah tindakan ovariectomi bilateral dilakukan, hewan coba diberi antibiotik gentamisin injeksi dengan dosis 60-80 mg/KgBB/hari selama 3 hari untuk mencegah terjadinya infeksi. Selanjutnya tikus diberikan perawatan selama 7 hari untuk pemulihan. Tikus yang sehat 7 hari pasca pembedahan selanjutnya dibagi menjadi kelompok T0 dan T1 secara random dengan memakai perangkat lunak SPSS. Masing-masing kelompok terdiri dari 18 ekor hewan model menopause. Hewan model menopause kelompok T1 merupakan kelompok perlakuan diberikan ekstrak etanol ubi jalar ungu 400 mg/hari yang dilarutkan dalam 1 ml akuades. Kelompok T0 sebagai kelompok kontrol diberikan saline 1 mL/hari. Perlakuan kepada semua hewan coba dilakukan selama 30 hari.

Pengukuran pH Vagina

Pengukuran tingkat keasaman vagina (pH) dilakukan sebelum perlakuan (*pre-*

test), 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu selama perlakuan, dan yang terakhir setelah perlakuan (*post-test*). Pengukuran pH vagina hewan model menopause memakai *pH indicator strip* merek Merck. Sebelum pengukuran pH hewan model menopause ditempatkan pada tabung untuk mencegah pergerakan yang berlebihan (*imobilisasi*), kemudian dilakukan pembersihan area genital dengan cairan saline, selanjutnya pH strip dimasukan kedalam introitus vagina dan didiamkan selama 10 detik dan pastikan cairan vagina meresap ke dalam strip pH. Kemudian strip pH ditarik dan warna yang muncul dicocokkan dengan warna standar untuk mengetahui pH dari cairan vagina.²²

Analisis Data

Data hasil pengukuran pH vagina dianalisis dengan menggunakan SPSS 15.0. Data pH merupakan data numerik, sehingga untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada masing-masing tahap pengukuran dipakai uji *Independent Sample T Test*. Untuk mengetahui perubahan pH sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok dipakai *Paired Sample T Test*. Sebelum dilakukan uji statistik terlebih dahulu dilaksanakan uji Levene untuk memastikan bahwa data bersifat homogen. Hasil uji statistik dinyatakan signifikan jika hasil perhitungan mendapatkan nilai $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama penelitian berlangsung semua hewan model menopause masih dalam keadaan sehat, sehingga data pH vagina yang diukur sebanyak 5 kali terdiri dari masing-masing 18 data untuk kelompok T0 dan 18 data untuk kelompok T1 (Tabel 1). Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa pH vagina sebelum perlakuan (*pre-test*) hampir sama antara kelompok T0 dan T1, yaitu masing-masing 7.72 ± 0.67 dan 7.83 ± 0.71 . Pengukuran pH vagina pada minggu ke-1 memperlihatkan ada peningkatan pada kedua kelompok (7.94 ± 0.41 untuk T0 dan 7.88 ± 0.47 untuk T1), tetapi selisih pH antar kedua kelompok masih sangat kecil. Hasil pengukuran pH

Tabel 1. Hasil pengukuran pH vagina pada kelompok T0 dan T1

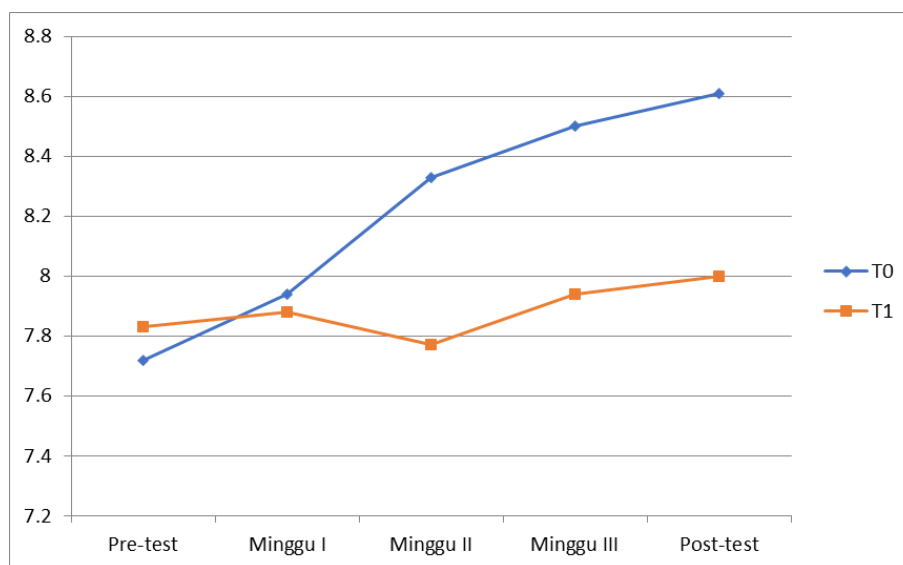
	Kelompok T0	Kelompok T1	Statistik
Pre-Test	7.72 ±0.67	7.83± 0.71	
Minggu I	7.94 ±0.41	7.88 ± 0.47	
Minggu II	8.33 ±0.59	7.77 ± 0.73	*
Minggu III	8.50 ±0.51	7.94 ± 0.93	*
Post-Test	8.61 ±0.50	8.00 ± 0.76	*

Keterangan : tanda * *Uji Independent Sample T Test* terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$)

pada minggu ke-2 mulai menunjukkan perbedaan yang cukup besar antar kedua kelompok, yaitu 8.33 ± 0.59 pada T0 dan 7.77 ± 0.73 pada T1. Pengukuran pH pada minggu ke-3 menemukan terjadi peningkatan pH pada kedua kelompok (8.50 ± 0.51 untuk T0 dan 7.94 ± 0.93 untuk T1), tetapi selisih antar kelompok masih sama dengan minggu ke-2. Pada akhir penelitian pengukuran pH menemukan ada banyak peningkatan pada T0 (8.61 ± 0.50) dan sedikit peningkatan pada P1 (8.00 ± 0.76), yang menyebabkan selisih pH antar kedua kelompok menjadi semakin lebar.

Analisis Levene menemukan semua data pH memiliki $p > 0.05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa semua data bersifat homogen. Berdasarkan hasil tersebut untuk mengetahui perbedaan rerata pH antar kelompok memakai *Independent Samples T Test*. Analisis statistik pH *pre-test*

mendapatkan $p = 0.631$, minggu ke-1 $p = 0.710$, minggu ke-2 $p = 0.017$, minggu ke-3 $p = 0.034$, dan pada *post-test* $p = 0.000$. Dari hasil analisis tersebut dapat diketahui bahwa pH vagina pada awal penelitian tidak ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok, pada minggu ke-2 juga masih sama seperti awal penelitian. Pada minggu ke-3 mulai ada perbedaan yang bermakna antara T1 dan T0, perbedaan yang bermakna terus berlanjut pada minggu ke-3 dan pada *post-test*. Pada akhir penelitian dapat dilihat (Gambar 1) bahwa kelompok T0 memiliki rerata pH vagina lebih tinggi dari T1. Untuk mengetahui perubahan sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan uji *Paired Samples T Test*, hasilnya menunjukkan ada perbedaan bermakna pH vagina sesudah dan sebelum perlakuan pada T0 ($p < 0.05$), sedangkan pada kelompok T1 tidak terjadi perbedaan yang bermakna.



Gambar 1. Hasil pengukuran pH vagina pada kelompok T0 dan T1

Atrofi vagina adalah keluhan yang paling umum pada wanita pascamenopause. Gejalanya meliputi rasa kering, gatal dan terbakar pada area genital, selain itu juga ada rasa sakit saat melakukan aktivitas seksual (dispareunia). Keadaan ini jika tidak mendapat penanganan yang tepat bisa menyebabkan penurunan libido dan gangguan pada kualitas hidup wanita pascamenopause.⁵ Hasil penelitian menyimpulkan bahwa gejala atrofi vagina disebabkan oleh penurunan kadar estrogen,²³ yang kemudian mengakibatkan perubahan mikroanatomi vulvovaginal, penurunan sekresi vagina, dan penurunan produksi glikogen oleh sel epitel vagina.⁶ Penurunan pelepasan glikogen disertai dengan penurunan populasi laktobasilus dan penurunan produksi asam laktat, akhirnya mengakibatkan peningkatan pH vagina. Peningkatan pH vagina menyebabkan vagina lebih rentan terhadap infeksi.^{23,24} Pemberian estrogen pada wanita menopause mampu memperbaiki indeks maturasi epitel vagina, meningkatkan populasi laktobasilus, dan menurunkan pH vagina.²³ Karena ada kekhawatiran akan efek samping dari pemakaian hormon, maka penggunaan obat herbal dan komplementer mendapat perhatian yang besar dalam penanganan masalah pada menopause. Salah satu bahan alternatif yang banyak dipelajari efektivitasnya adalah fitoestrogen.²⁵

Fitoestrogen adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan dengan struktur yang mirip dengan hormon estrogen. Kesamaan struktural dengan estrogen memungkinkan fitoestrogen terikat pada reseptor estrogen dan memiliki efek estrogenik. Fitoestrogen diketahui memiliki banyak manfaat dalam mengatasi berbagai masalah kesehatan pada menopause misalnya memperbaiki gejala *hot flushes* dan osteoporosis.²⁶ Fitoestrogen juga terbukti bisa memperbaiki masalah pada organ genital seperti mengurangi masalah kekeringan pada vagina,²⁷ memperbaiki indeks maturasi epitel vagina dan memperbaiki

mikrobiota pada vagina.²⁸ Ada banyak tanaman obat yang sudah terbukti berperan sebagai fitoestrogen seperti *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis*, *Valeriana officinalis*, *Cimicifuga racemosa*, *Fenugreek*, *Nigella sativa*, *Foeniculum vulgare*, *Oenothera biennis*, *Ginkgo biloba*, *Alfalfa*, *Panax ginseng*, *Red clover*, dan *Glycine soja*.²⁵ Pada penelitian ini dievaluasi aktivitas fitoestrogen dari umbi ubi jalar ungu yang merupakan salah satu bahan pangan populer di Indonesia, dengan mengukur tingkat keasaman (pH) vagina hewan model menopause.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol ubi jalar ungu mampu mempertahankan pH atau mencegah peningkatan pH vagina hewan model menopause. Hal ini terlihat dari hasil penelitian yang menemukan bahwa rerata pH vagina kelompok T0 mengalami peningkatan secara signifikan sedangkan kelompok T1 relatif stabil, didukung juga oleh hasil uji *Paired Sample T Test* yang menemukan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pH vagina pada kelompok T1 antara post-test dan pre-test, sedangkan pada kelompok kontrol (T0) ada perbedaan (peningkatan) yang bermakna. Efek dari ekstrak etanol ubi jalar ungu dalam mencegah peningkatan pH vagina terjadi setelah 2 minggu perlakuan, hal ini terlihat dari hasil analisis *Independent Samples T Test* yang menemukan rerata pH antar kelompok berbeda bermakna mulai minggu ke-2 sampai akhir penelitian (*post-test*). Dari pemaparan di atas dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol ubi jalar ungu dosis 400mg/hari memiliki aktivitas fitoestrogen, karena mampu mencegah peningkatan pH vagina pada hewan model menopause. Hasil ini mengkonfirmasi hasil penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa ekstrak etanol ubi jalar ungu memiliki aktivitas fitoestrogen yaitu mampu memperbaiki tebal epitel dan tingkat maturasi epitel organ vagina hewan model menopause.¹⁸ Efektivitas fitoestrogen dalam menjaga pH vagina pada hewan coba juga ditunjukkan oleh beberapa hasil penelitian sebelumnya,

antara lain pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) pada hewan model menopause,²⁹ susu kedelai pada tikus Wistar betina immatur,³⁰ dan ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) pada tikus putih benita yang dipapar DMPA.³¹

Hasil penelitian ini menambah daftar efek menguntungkan dari ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) pada kesehatan. Ubi jalar ini berwarna ungu disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder antosian yang tinggi, yang menyebabkan ubi jalar ungu memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai tanaman obat.³² Ubi jalar ungu telah diketahui memiliki berbagai aktivitas, yaitu : (1) sebagai antioksidan yang kuat, mencegah aterosklerosis dan memperbaiki diabetes,³³ (2) menurunkan kadar asam urat darah,³⁴ (3) dan sebagai agen anti-inflamasi dan menghambat pertumbuhan sel kanker.³⁵

Aktivitas fitoestrogen dari ubi jalar ungu yang buktikan pada penelitian ini sangat mungkin disebabkan oleh kandungan antosianinnya. Hipotesis ini berdasarkan beberapa hasil penelitian sebelumnya yang membuktikan aktivitas fitoestrogen bahan yang kaya dengan antosianin. Ekstrak *Blackcurrant* (*Ribes nigrum* L.) yang kaya antosianin memiliki aktivitas fitoestrogen dalam menjaga kesehatan pembuluh darah tikus yang diovariectomi,^{36, 37} memperbaiki profil lipid dan mengurangi penanda risiko penyakit kardiovaskular pada tikus perimenopause,³⁸ dan mengurangi aktivitas resorpsi tulang pada hewan model menopause.¹⁴

Lama perlakuan terhadap hewan model menopause pada penelitian ini belum optimal, yang ditunjukkan oleh rerata pH vagina *post-test* pada kelompok T1 (8.00 ± 0.76) masih lebih tinggi dari rerata pH *pre-test* (7.83 ± 0.71), walaupun uji *Paired Sample T Test* tidak menemukan perbedaan bermakna antara keduanya. Tingkat keasaman vagina *pre-test* pada kedua kelompok berkisar antara 7.72-7.83, hasil penelitian sedikit lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya yang

menemukan bahwa pH vagina pada hewan golongan pengerat mendekati pH netral yaitu sekitar 6.8-7.1.³⁹ Hal ini disebabkan oleh karena pengukuran pH vagina *pre-test* pada penelitian ini dilakukan 7 hari setelah ovariectomi bilateral. Tingkat keasaman vagina hewan pengerat jika dibandingkan dengan pH vagina pada manusia sangat berbeda. Pada wanita usia reproduksi pH vagina berkisar 4.5-5.5 dan pada masa menopause akan meningkat menjadi sekitar 7.0-7.4, sedangkan pada hewan pengerat pH vagina normal mendekati pH netral,⁴⁰ yang disebabkan oleh populasi *Lactobacillus* pada vagina yang jauh lebih rendah dibandingkan pada vagina manusia.⁴¹ Karena alasan tersebut maka hewan pengerat kurang sesuai jika dipakai untuk penelitian obat atau bahan yang bekerja pada pH rendah.⁴¹ Hasil penelitian ini masih bisa dinyatakan valid karena mengukur perubahan pH sebelum dan setelah perlakuan dan dibandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol ubi jalar ungu dosis 400 mg/hari mampu mencegah peningkatan pH vagina tikus Wistar setelah ovariectomi bilateral. Efek fitoestrogen ubi jalar ungu mulai terlihat setelah dua minggu perlakuan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana atas dukungan sarana sehingga penelitian ini bisa berlangsung dengan baik.

DAFTAR RUJUKAN

1. Naumova I, Castelo-Branco C. Current treatment options for postmenopausal vaginal atrophy. *International Journal of Women's Health*. 2018 Jul;10:387-95. doi: 10.2147/IJWH.S158913
2. Faubion SS, Kuhle CL, Shuster LT, Rocca WA. Long-term health consequences of premature or early menopause and considerations for management.

- Climacteric : The journal of the International Menopause Society. 2015 Apr;18(4):483-91. doi: 10.3109/13697137.2015.1020484
3. Monteleone P, Mascagni G, Giannini A, Genazzani AR, Simoncini T. Symptoms of menopause - global prevalence, physiology and implications. Nature reviews Endocrinology. 2018 Apr;14(4):199-215. doi: 10.1038/nrendo.2017.180
4. Calleja-Agius J, Brincat MP. The urogenital system and the menopause. Climacteric : the journal of the International Menopause Society. 2015;18(1):18-22. doi: 10.3109/13697137.2015.1078206
5. Angelou K, Grigoriadis T, Diakosavvas M, Zacharakis D, Athanasiou S. The genitourinary syndrome of menopause: An Overview of the Recent Data. Cureus. 2020 Apr;12(4): 1-9: doi: 10.7759/cureus.7586
6. Muhleisen AL, Herbst-Kralovetz MM. Menopause and the vaginal microbiome. Maturitas. 2016 Sep;91:42-50. doi: 10.1016/j.maturitas.2016.05.015
7. Donders GGG, Ruban K, Bellen G, Grinceviciene S. Pharmacotherapy for the treatment of vaginal atrophy. Expert Opin Pharmacother. 2019 May;20(7):821-35. doi: 10.1080/14656566.2019.1574752
8. Alvisi S, Gava G, Orsili I, Giacomelli G, Baldassarre M, Seracchioli R, et al. Vaginal health in menopausal women. Medicina (Kaunas). 2019 Sep 20;55(10):1-13. doi: 10.3390/medicina55100615
9. Dizavandi FR, Ghazanfarpour M, Roozbeh N, Kargarfard L, Khadivzadeh T, Dashti S. An overview of the phytoestrogen effect on vaginal health and dyspareunia in peri- and post-menopausal women. Post reproductive health. 2019 Feb; 25(1): 11-20. doi: 10.1177/2053369118823365
10. Prochazkova T, Sychrova E, Javurkova B, Vecerkova J, Kohoutek J, Lepsova-Skacelova O, et al. Phytoestrogens and sterols in waters with cyanobacterial blooms - Analytical methods and estrogenic potencies. Chemosphere. 2017 Mar;170:104-12. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.006
11. Jaroenporn S, Urasopon N, Watanabe G, Malaivijitnond S. Improvements of vaginal atrophy without systemic side effects after topical application of Pueraria mirifica, a phytoestrogen-rich herb, in postmenopausal cynomolgus macaques. The Journal of Reproduction and Development. 2014 ;60(3): 238-45. doi: 10.1262/jrd.2013-144
12. Yaralizadeh M, Abedi P, Najar S, Namjoyan F, Saki A. Effect of Foeniculum vulgare (fennel) vaginal cream on vaginal atrophy in postmenopausal women: A double-blind randomized placebo-controlled trial. Maturitas. 2016 Feb;84:75-80. doi: 10.1016/j.maturitas.2015.11.005
13. Laskar YB, Laskar MA, Mazumder PB, Talukdar AD. Hibiscus anthocyanins can selectively modulate estrogen receptor activity with favorable toxicology: A computational analysis. Preprints. 2020. doi:10.20944/preprints202012.0670.v1
14. Zheng X, Mun S, Lee SG, Vance TM, Hubert P, Koo SI, et al. Anthocyanin-rich blackcurrant extract attenuates ovariectomy-induced bone loss in mice. Journal of Medicinal Food. 2016 Apr;19(4): 390-7. doi: 10.1089/jmf.2015.0148
15. Shukitt-Hale B, Bielinski DF, Lau FC, Willis LM, Carey AN, Joseph JA. The beneficial effects of berries on cognition, motor behaviour and neuronal function in ageing. The British Journal of Nutrition. 2015 Nov 28;114(10):1542-9. doi: 10.1017/S0007114515003451
16. Nanashima N, Horie K, Maeda H. Phytoestrogenic cctivity of blackcurrant anthocyanins is partially mediated through estrogen receptor beta. Molecules. 2017 Dec;23(1):1-11. doi: 10.3390/molecules23010074
17. Adnyana IMO, Sudewi R, Samatra P, Suprpta S. balinese cultivar of purple sweet potato improved neurological score and bdnf and reduced caspase-independent apoptosis among Wistar rats with ischemic stroke. Open access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2019 Jan 15;7(1): 38-44. doi: 10.3889/oamjms.2019.019
18. Yuwono J, Sugiritama IW, Mayun GN, Juli Sumadi W. Efek pemberian ekstrak ethanol ubi jalar ungu (Ipomoea batatas L) terhadap ketebalan dan diferensiasi sel epitel vagina tikus betina yang mengalami ovariectomi. E-Jurnal Medika Udayana. 2018; 7(5): 203-10.

19. Paramita NPC, Sugiritama IW, Linawati NM, Ratnayanti IGAD, Wahyuniari IAI, Arijana IGKN, et al. Ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea Batatas L.*) menurunkan degenerasi lemak jaringan hati tikus yang diovariectomi E-Jurnal Medika Udayana. 2019; 8(1): 33-9.
20. Rahmawati IM, Soetjipto, Adi AC, Aulanni'am. Malonaldehyde Level of administration ethanol extract of purple sweet potato var. ayamurasaki in Doca-Salt hypertensive rats. *Journal of Applied Food Technology*. 2018;5(1): 6-9. doi: 10.17728/jaft.56
21. Ingle DJ, and Griffith, J. Q. Surgery of the Rat. In: E. J. Farris and J. Q. Griffith (eds.), *The rat in laboratory investigation*, . 2 ed. New York: Hafner Pub. Co., Inc; 1962. 18 p.
22. Beckwith-Cohen B, Koren O, Blum S, Elad D. Variations in vaginal ph in dairy cattle associated with parity and the periparturient period. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 2012 ; 67(1): 55-9.
23. Shen J, Song N, Williams CJ, Brown CJ, Yan Z, Xu C, et al. Effects of low dose estrogen therapy on the vaginal microbiomes of women with atrophic vaginitis. *Scientific reports*. 2016 Apr ;6(24380):1-9. doi: 10.1038/srep24380
24. Mirmonsef P, Hotton AL, Gilbert D, Gioia CJ, Maric D, Hope TJ, et al. Glycogen levels in undiluted genital fluid and their relationship to vaginal pH, Estrogen, and Progesterone. *PLoS One*. 2016 Apr;11(4): 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0153553
25. Kargozar R, Azizi H, Salari R. A review of effective herbal medicines in controlling menopausal symptoms. *Electronic Physician*. 2017 Nov;9(11): 5826-33. doi: 10.19082/5826
26. Rietjens I, Louisse J, Beekmann K. The potential health effects of dietary phytoestrogens. *British Journal of Pharmacology*. 2017 Jun;174(11): 1263-80. doi: 10.1111/bph.13622
27. Zingue S, Nde CBM, Michel T, Ndinteh DT, Tchatchou J, Adamou M, et al. Ethanol-extracted Cameroonian propolis exerts estrogenic effects and alleviates hot flushes in ovariectomized Wistar rats. *BMC complementary and alternative medicine*. 2017 Jan;17(1): 1-17. doi: 10.1186/s12906-017-1568-8
28. Suwanvesh N, Manonai J, Sophonsritsuk A, Cherdshewasart W. Comparison of Pueraria mirifica gel and conjugated equine estrogen cream effects on vaginal health in postmenopausal women. *Menopause*. 2017 Feb;24(2): 210-5. doi: 10.1097/GME.0000000000000742
29. Yuliani I. Pengaruh pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna Unguiculata*) terhadap ketebalan epitel vagina dan derajat keasaman vagina (pH) tikus hipoestrogen.[Thesis]. Malang: Universitas Brawijaya; 2014.
30. Fauziyah N. Pengaruh pemberian susu kedelai sejak usia 4 minggu sampai usia 8 minggu terhadap ekspresi reseptor ESTROGEN- β DI Vagina, proliferasi sel epitel vagina dan tingkat keasaman (Ph) vagina pada tikus galu. [Thesis]. Malang: Universitas Brawijaya; 2016.
31. Wulaningtyas ES. Pengaruh Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) terhadap proliferasi epitel, jumlah koloni lactobacillus dan derajat keasaman (Ph) vagina. [Thesis]. Malang: Brawijaya; 2017.
32. Mohanraj R, Sivasankar S. Sweet potato (*Ipomoea batatas [L.] Lam*)-a valuable medicinal food: a review. *Journal of Medicinal Food*. 2014 Jul;17(7): 733-41. doi: 10.1089/jmf.2013.2818
33. Park KH, Kim JR, Lee JS, Lee H, Cho KH. Ethanol and water extract of purple sweet potato exhibits anti-atherosclerotic activity and inhibits protein glycation. *Journal of Medicinal Food*. 2010 Feb;13(1): 91-8. doi: 10.1089/jmf.2009.1077
34. Hwa KS, Chung DM, Chung YC, Chun HK. Hypouricemic effects of anthocyanin extracts of purple sweet potato on potassium oxonate-induced hyperuricemia in mice. *Phytotherapy Research* : PTR. 2011 Sep;25(9): 1415-7. doi: 10.1002/ptr.3421
35. Sugata M, Lin CY, Shih YC. Anti-Inflammatory and anticancer activities of taiwanese purple-fleshed sweet potatoes (*Ipomoea batatas L. Lam*) extracts. *BioMed Research International*. 2015 :1-10. doi: 10.1155/2015/768093
36. Horie K, Nanashima N, Maeda H, Tomisawa T, Oey I. Blackcurrant (*Ribes nigrum L.*) extract exerts potential vasculoprotective effects in ovariectomized rats, including prevention

- of elastin degradation and pathological vascular remodeling. *Nutrients*. 2021 Feb;13(2):1-13. doi: 10.3390/nu13020560
37. Horie K, Nanashima N, Maeda H. Phytoestrogenic effects of Blackcurrant anthocyanins increased endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression in human endothelial cells and ovariectomized rats. *Molecules*. 2019 Mar;24(7):1-11. doi: 10.3390/molecules24071259
 38. Li N, Li J, Hao J, Zhang M, Yin J, Geng J, et al. Bilberry anthocyanin improves the serum cholesterol in aging perimenopausal rats via the estrogen receptor signaling pathway. *Food & Function*. 2019 Jun 19;10(6): 3430-8. doi: 10.1039/c9fo00639g
 39. Nakada Y, Miyake M, Awata N. Some factors affecting the vaginal absorption of human calcitonin in rats, *International Journal of Pharmaceutics*. 1993 ;89(3): 169-75. doi: [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(93\)90240-G](https://doi.org/10.1016/0378-5173(93)90240-G).
 40. de Araujo Pereira RR, Bruschi ML. Vaginal mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2012 Jun;38(6): 643-52. doi: 10.3109/03639045.2011.623355
 41. Fidel PL, Jr. The Neutral vaginal pH in mice that is typical of most mammalian species should not deter research using experimental murine models of Candida Vaginitis. *Infection and immunity*. 2021 Jan 19;89(2). doi: 10.1128/IAI.00624-20



Tingkat Pengetahuan Masyarakat tentang Obat Tradisional setelah Pemberian *E-Booklet* di Kabupaten Karimun

Public Knowledge Level of Traditional Medicines after Giving E-Booklets in Karimun District

Ratna Sari Dewi*, Putri Qurnia Pratiwi, Mira Febrina, Nesa Agistia

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, Indonesia

*E-mail: ratnasaridewi@stifar-riau.ac.id

Kata kunci:

Pengetahuan;
Media; E-Booklet;
Obat Tradisional

Keywords:

Knowledge, Media;
E-Booklet,
Traditional Medicine

Received:

21-03-2022

Revised:

26-07-2022

Accepted:

18-08-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(2):128-136

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.5950>

Abstrak

Pengetahuan mengenai obat tradisional merupakan hal penting bagi terbentuknya aktivitas seseorang dalam menggunakan obat tradisional. Studi pendahuluan yang dilakukan menunjukkan tingkat pengetahuan masyarakat tentang obat tradisional pada kategori kurang. Hal ini dapat disebabkan oleh kurangnya keinginan mencari informasi dan kurangnya edukasi dari tenaga kesehatan. Untuk itu dibutuhkan media edukasi seperti *e-booklet*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat tingkat pengetahuan masyarakat tentang obat tradisional setelah diberikan *e-booklet*. Penelitian ini menggunakan metode pra eksperimen dengan rancangan *one group pretest-posttest design*. Populasi penelitian adalah penduduk Kabupaten Karimun yang pernah menggunakan obat tradisional. Sampel penelitian ini 150 responden yang ditentukan menggunakan metode *purposive sampling*. Kriteria inklusi penelitian yaitu responden berusia minimal 18 tahun, telah menggunakan obat tradisional berlogo dan terdaftar pada BPOM minimal 3 bulan terakhir, bisa menggunakan *smartphone* dan bersedia menjadi responden. Instrumen penelitian yaitu media *e-booklet* dan kuesioner pengetahuan. Kuesioner pengetahuan yang digunakan telah dilakukan uji validitas dan reliabilitas (diperoleh 20 pertanyaan valid dengan nilai r 0,881). Analisis data secara univariat untuk menggambarkan tingkat pengetahuan serta bivariat dilakukan untuk analisis perubahan skor pengetahuan *pretest* dan *posttest* dengan uji *wilcoxon*. Hasil yang diperoleh sebelum pemberian *e-booklet* yaitu pengetahuan baik sebanyak 6,6%, cukup sebanyak 55,4% dan kurang sebanyak 38% sedangkan setelah diberikan *e-booklet* pengetahuan responden dengan kategori baik sebanyak 55,4%, cukup sebanyak 38% dan kurang sebanyak 6,6%. Analisis bivariat diperoleh p value 0,000. Dapat disimpulkan bahwa media yang diberikan berpengaruh signifikan terhadap pengetahuan responden.

Abstract

Knowledge of traditional medicine is important for the formation of a person's activity in using traditional medicine. Preliminary studies conducted show the level of public knowledge about traditional medicine in the less category. This can be caused by a lack of desire to seek information and lack of education from health workers. For this reason, educational media such as *e-booklets* are needed. This study aims to see the level of public knowledge about traditional medicine after being given an *e-booklet*. This study uses a pre-experimental method with a *one group pretest-posttest design*. The population of this research is the residents of Karimun Regency who have used traditional medicine. The sample of this study was 150 respondents who were determined using *purposive sampling* method. The inclusion criteria for the study were that the respondent was at least 18 years old, had used traditional medicine with the logo and was registered with BPOM for at least the last 3 months, could use a *smartphone* and was willing to be a respondent. The research instrument is *e-booklet* media and knowledge questionnaire. The knowledge questionnaire used has been tested for validity and reliability (obtained 20 valid questions with an r value of 0.881). Univariate data analysis to describe the level of knowledge and bivariate analysis was carried out for the analysis of changes in pretest and posttest knowledge scores using the Wilcoxon test. The results obtained before giving the *e-booklet* are good knowledge as much as 6.6%, sufficient as much as 55.4% and less as much as 38% while after being given the *e-booklet* the knowledge of respondents with good category is 55.4%, enough is 38% and less as much as 6.6%. Bivariate analysis obtained p value 0.000. It can be concluded that the given media has a significant effect on respondents knowledge.

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional telah banyak digunakan di dunia dan sekitar 80% penduduk di beberapa negara menggunakan pengobatan tradisional sebagai jaminan dan perawatan kesehatan mereka.¹ Masyarakat Indonesia telah menggunakan berbagai macam obat tradisional baik dari campuran yang dibuat sendiri maupun sediaan atau ramuan yang telah terjual di pasaran. Informasi Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), bahwa obat tradisional yang mendapat izin edar di Indonesia hingga Juli 2020 tercatat 24 fitofarmaka, 71 produk OHT (Obat Herbal Terstandar) dan jamu tercatat 11.000 produk.² Berdasarkan informasi dari RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar) pada tahun 2018 penduduk Indonesia melakukan pengobatan menggunakan ramuan jadi obat tradisional yang terjual di pasaran sebanyak (48%), untuk pengobatan menggunakan obat tradisional ramuan sendiri (31,8%) dan memanfaatkan YANKESTRAD (Pelayanan Kesehatan Tradisional) sebanyak (31,4%).³

Informasi atau intelektual merupakan hal yang penting bagi terbentuknya pengaturan aktivitas seseorang (*over behavior*). Sebagaimana ditunjukkan oleh teori WHO (*World Health Organization*) menyatakan bahwa salah satu jenis objek kesehatan dapat digambarkan dengan informasi yang diperoleh dari wawasan dan pengalaman sendiri.⁴ Sebagai uji pendahuluan, peneliti melakukan *survey* terhadap 60 masyarakat di Wilayah Kabupaten Karimun dengan menyebarkan kuesioner *online* dan diperoleh hasil tingkat pengetahuan masyarakat berada pada kategori kurang. Oleh karena itu, untuk meningkatkan pengetahuan masyarakat dibutuhkan media penunjang atau media edukasi.

Pemanfaatan media disesuaikan dengan kegunaan dan informasi yang akan disampaikan. Salah satu jenis media yang dapat digunakan dalam sistem pembelajaran adalah media cetak, seperti *booklet*. *Booklet* memiliki manfaat yaitu

dapat dipelajari kapan saja karena *design* menarik, dapat dipelajari secara mandiri, pesan atau informasi relatif lebih banyak dan konfigurasi *booklet* yang menarik akan membuat pembaca tertarik untuk memahaminya.⁵ Penelitian lainnya menunjukkan bahwa *booklet* dapat digunakan sebagai salah satu media pembelajaran karena memuat berbagai gambar.⁶ Keefektifan *booklet* sebagai media penunjang juga telah terbukti dalam penelitian yang menunjukkan bahwa media *booklet* efektif dalam meningkatkan pengetahuan masyarakat terhadap masalah kesehatan.⁷

Negara Indonesia merupakan salah satu negara dengan perkembangan penggunaan internet yang cukup pesat. Masyarakat memiliki kemudahan dalam hal pencarian informasi mengenai kesehatan.⁸ Asosiasi dan forum kesehatan di beberapa belahan dunia telah memaksimalkan penggunaan media internet dan media sosial sebagai sarana untuk memberikan pembelajaran kepada masyarakat mengenai kesehatan.⁹ Untuk itu, peneliti berupaya mengembangkan media edukasi obat tradisional menggunakan *e-booklet*. Menurut hasil survei di Kabupaten Karimun pasien yang melakukan pengobatan sendiri (*selftreatment*) untuk penyakit yang diderita dan menggunakan obat tradisional sebesar 61,58%. Karena pasien telah banyak yang melakukan pengobatan mandiri di rumah (*selftreatment*) maka dibutuhkan pemberian informasi dan media pendidikan kesehatan agar obat tradisional digunakan secara tepat.¹⁰

Penelitian ini dilakukan di Kabupaten Karimun, dengan pertimbangan berdasarkan studi pendahuluan yang dilakukan sebelumnya diketahui mayoritas masyarakatnya memiliki pengetahuan kategori kurang tentang obat tradisional sehingga diharapkan media edukasi yang telah dirancang dapat meningkatkan pengetahuan masyarakat tentang obat tradisional.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian pra eksperimen dengan rancangan desain penelitian yaitu *one group pretest-posttest design*. Sebagai tahap awal responden akan diberikan kuesioner atau dilakukan *pretest* untuk memperoleh data tingkat pengetahuan responden sebelum diberikan intervensi. Intervensi yang diberikan berupa pemberian *e-booklet* yang dibuat oleh peneliti dan diberikan kepada responden untuk dibaca serta dipahami oleh responden. Setelah itu, responden diberikan kembali kuesioner (dilakukan *posttest*) untuk memperoleh data tingkat pengetahuan setelah diberikan *e-booklet*.

Sampel dalam penelitian ini diambil menggunakan teknik *purposive sampling* yaitu penetapan jumlah sampel berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan peneliti. Kriteria inklusi terdiri dari usia minimal 18 tahun, menggunakan obat tradisional berlogo (terdaftar BPOM) minimal tiga bulan terakhir dan bersedia menjadi responden. Kriteria eksklusi yaitu responden yang tidak dapat dihubungi kembali saat *posttest* dan responden yang tidak mengisi lengkap kuesioner. Jumlah minimal sampel dihitung dengan menggunakan rumus *Lame show* (Riduwan & Akdon, 2010) sebagai berikut:

$$n = \frac{\left(z_{1-\frac{\alpha}{2}}\right)^2 P(1-P)}{d^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 (0,5)(1-0,5)}{(0,1)^2}$$

$$n = \frac{(3,8416)(0,5)(0,5)}{(0,01)}$$

$$n = 96 \text{ responden}$$

Berdasarkan perhitungan rumus diatas, maka minimal sampel yang digunakan adalah 96 responden namun dalam penelitian ini terdapat 150 responden yang memenuhi kriteria inklusi sehingga dijadikan sebagai sampel penelitian

Kuesioner pengetahuan disusun merujuk pada informasi yang dikeluarkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tentang Persyaratan Keamanan

dan Mutu Obat Tradisional tahun 2019 dan dimodifikasi sesuai kebutuhan dalam penelitian. Informasi yang harus tercantum adalah definisi obat tradisional, bentuk sediaan obat tradisional, jenis-jenis obat tradisional, penandaan dan penomoran registrasi obat tradisional yang baik, kelebihan dan kekurangan obat tradisional dan juga cara memilih obat tradisional yang baik. Media edukasi berupa *e-booklet* yang dibuat menggunakan aplikasi *vector graphic open source Inkscape* dan *Canva* yang berjumlah 17 halaman, dan memuat seluruh informasi yang akan ditanyakan dalam kuesioner pengetahuan yaitu tentang definisi obat tradisional, bentuk sediaan obat tradisional, jenis-jenis obat tradisional, penandaan dan penomoran registrasi obat tradisional yang baik, kelebihan dan kekurangan obat tradisional dan juga cara memilih obat tradisional yang baik. Masyarakat dapat mengakses media *e-booklet* pada link yang telah dibagikan oleh peneliti.

Sebelum digunakan sebagai instrumen penelitian, dilakukan uji validitas dan reliabilitas terhadap kuesioner terlebih dahulu. Kuesioner diujikan terhadap 20 responden sehingga pertanyaan dinyatakan valid apabila nilai r hitung $\geq 0,444$.

Analisis data dilakukan terhadap data demografi responden dan juga data pengetahuan responden yang diukur saat *pre-test* dan *post-test*. Pemberian skor menggunakan skala *Guttman*, yaitu 1 untuk jawaban benar dan 0 untuk jawaban salah. Penilaian berdasarkan kategori pertanyaan seperti *favorable* dan *unfavorable* yang dapat dilihat pada Tabel 1. Perhitungan persentase tingkat pengetahuan responden menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Dp = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

Dp : Deskriptif persentase

n : Skor Aktual

N : Skor Ideal

Tabel 1. Kategori Penilaian Skala Guttman

No.	Jenis Pertanyaan	Skor	
		Ya	Tidak
1.	<i>Favorable</i>	1	0
2.	<i>Unfavorable</i>	0	1

Selanjutnya persentase yang diperoleh diinterpretasikan berdasarkan kriteria interpretasi skor pada Tabel 2.¹³

Tabel 2. Kategori Tingkat Pengetahuan

Kategori	Persentase
Pengetahuan Tinggi	>75%
Pengetahuan Cukup	60% - 75%
Pengetahuan Rendah	<60%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Validitas dan Reliabilitas

Uji validitas dilakukan pada 20 responden agar diperoleh nilai pengukuran mendekati normal. Lembar kuesioner dinyatakan dapat digunakan dalam penelitian apabila hasil pengukuran nilai r hitung lebih besar dibandingkan r tabel. Nilai r hitung didapatkan dari banyaknya jumlah sampel untuk validitas dan reliabilitasnya, dan pengujian yang menggunakan 20 responden dengan persen kesalahan 5% maka untuk nilai r tabel adalah 0,44 (hasil disajikan pada Tabel 3).¹⁴

Uji reliabilitas dilakukan untuk melihat apakah alat ukur dapat dipercaya dan digunakan dalam suatu penelitian. Uji reliabilitas dilakukan dengan metode *Alpha Cronbach*. Kuesioner dinyatakan reliabel apabila hasil pengukuran koefisien *Alpha Cronbach* memiliki nilai minimal 0,60.¹³ Berdasarkan hasil pengujian reliabilitas, variabel pertanyaan pada kuesioner dinyatakan reliabel karena memiliki nilai *Alpha Cronbach* > 0,60 dimana nilai yang diperoleh adalah 0,881.

Pengetahuan Berdasarkan Demografi

Jenis Kelamin

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 4), dapat dilihat bahwa jenis kelamin laki-laki

maupun perempuan sama-sama dalam kategori pengetahuan baik setelah pemberian intervensi berupa media *e-booklet*. Hal ini sejalan dengan penelitian lainnya yang juga menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan secara signifikan antara kemampuan dalam menyerap informasi pada laki-laki dan perempuan.¹⁵ Selain itu, hal lain yang menjadi faktor banyaknya jumlah responden perempuan dalam penelitian ini dikarenakan perempuan lebih banyak memiliki waktu dalam menggunakan internet dari pada laki-laki, dimana kebanyakan laki-laki pada Kelurahan tersebut bekerja sehingga waktu luangnya lebih sedikit. *Survey* yang dilakukan oleh Kementerian Informasi dan Komunikasi RI pada tahun 2017 yang menunjukkan hasil bahwa pengguna media sosial berdasarkan jenis kelamin untuk perempuan adalah sebesar 86,49%.¹⁵

Usia

Kategori berdasarkan usia responden diketahui pada usia remaja akhir (18-25 tahun) dan dewasa awal (26-35 tahun) responden dalam kategori pengetahuan baik. Menurut teoritisnya semakin bertambah usia akan semakin berkembang pula daya tangkap dan pola pikir seseorang, sehingga pengetahuan yang diperoleh semakin baik. Pada penelitian ini peneliti memanfaatkan internet dalam memberikan intervensi kepada responden sehingga responden pada usia remaja akhir memiliki peran dalam memanfaatkan internet, yang dapat dilihat dari penggunaan internet pada remaja akhir lebih besar dari pada dewasa awal dan dewasa akhir dan juga pada usia tersebut memiliki kemampuan mengingat yang lebih baik.¹⁶⁻¹⁷

Pendidikan Terakhir

Berdasarkan tingkat pendidikan terakhir responden, didapatkan hasil bahwa tingkat pendidikan terakhir menengah (SMP-SMA/ sederajat) dan tinggi (Perguruan Tinggi) dalam kategori baik setelah pemberian media *e-booklet*.

Tabel 3. Hasil Uji Validitas Kuesioner

No	Pertanyaan	r hitung	r tabel	Ket
1	Apakah obat tradisional adalah obat yang dibuat dari bahan atau paduan bahan-bahan yang diperoleh dari tanaman, hewan atau mineral?	0,576	0,444	Valid
2	Apakah obat tradisional merupakan obat campuran antara bahan kimia dan bahan alami yang digunakan sejak turun temurun?	0,540	0,444	Valid
3	Apakah bentuk sediaan obat tradisional yang beredar dipasaran dalam bentuk kapsul, sirup, serbuk, simplisia dan tablet?	0,616	0,444	Valid
4	Apakah dipasaran hanya tersedia obat tradisional dalam bentuk sediaan kapsul?	0,576	0,444	Valid
5	Apakah pengelompokkan obat tradisional di Indonesia adalah jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka?	0,616	0,444	Valid
6	Apakah jamu merupakan obat tradisional Indonesia yang tidak memerlukan pembuktian ilmiah sampai dengan klinis, tetapi cukup dengan pembuktian empiris (pengalaman) ?	0,472	0,444	Valid
7	 Apakah gambar tersebut merupakan logo obat tradisional jamu?	0,532	0,444	Valid
8	Apakah obat herbal terstandar merupakan obat yang perlu dilakukan uji pra-klinis (terhadap hewan) mengenai standar kandungan bahan yang berkhasiat?	0,574	0,444	Valid
9	Apakah tolak angin merupakan contoh sediaan obat tradisional jamu?	0,526	0,444	Valid
10	 Apakah gambar tersebut merupakan logo obat herbal terstandar?	0,562	0,444	Valid
11	Apakah stimuno merupakan obat herbal terstandar?	0,562	0,444	Valid
12	Apakah diabet merupakan obat herbal golongan jamu?	0,572	0,444	Valid
13	Apakah nomor registrasi obat herbal adalah nomor identitas yang dikeluarkan oleh Badan POM setelah proses registrasi obat tersebut disetujui?	0,576	0,444	Valid
14	Apakah penulisan nomor registrasi diatur oleh Badan POM?	0,607	0,444	Valid
15	Apakah nomor registrasi tidak wajib dicantumkan pada kemasan obat tradisional?	0,593	0,444	Valid
16	Apakah tujuan dari nomor registrasi obat tradisional adalah untuk menyamakan antara obat yang belum diregistrasi dengan yang sudah diregistrasi?	0,586	0,444	Valid
17	Apakah pencantuman kegunaan dan cara penggunaan obat herbal harus dalam bahasa Indonesia?	0,506	0,444	Valid
18	Apakah pada kemasan obat herbal boleh menggunakan bahasa daerah masing-masing sesuai dengan alamat produksi?	0,616	0,444	Valid
19	Apakah obat tradisional membutuhkan waktu lama untuk mendapatkan khasiat obat sehingga harus dikonsumsi secara rutin?	0,616	0,444	Valid
20	Apakah obat tradisional sulit diproduksi dan dipasarkan?	0,472	0,444	Valid

Tabel 4. Jumlah dan Persentase Pengetahuan Responden Berdasarkan Data Demografi

Data Demografi	Gambaran Pengetahuan Responden					
	Pretest			Posttest		
	Jumlah Responden	%	Interpretasi	Jumlah Responden	%	Interpretasi
Jenis Kelamin						
Laki-laki	63	59,8	Kurang	63	76,4	Baik
Perempuan	87	60,1	Cukup	87	77,8	Baik
Rentang Usia						
Remaja Akhir	80	62,1	Cukup	80	79,6	Baik
Dewasa Awal	43	56,7	Kurang	43	75,8	Baik
Dewasa Akhir	27	59,1	Kurang	27	72,7	Cukup
Pendidikan Terakhir						
Dasar						
Menengah	9	58,8	Kurang	9	70,0	Cukup
Tinggi	95	58,5	Kurang	95	76,7	Baik
	46	62,5	Cukup	46	78,3	Baik
Status Pekerjaan						
Bekerja	101	59,1	Kurang	101	76,1	Baik
Tidak Bekerja	49	61,8	Cukup	49	79,4	Baik

Tingkat pengetahuan seseorang yang memiliki pendidikan terakhir dalam kategori tinggi dan menengah lebih baik dari kategori dasar dikarenakan kesadaran akan status kesehatan dan konsekuensinya lebih tinggi. Pendidikan yang lebih tinggi cenderung meningkatkan kesadaran akan status kesehatan dan konsekuensinya untuk menggunakan pelayanan kesehatan.¹⁸ Semakin tinggi tingkat pendidikan seseorang, maka akan semakin mudah menerima informasi dan semakin banyak pula pengetahuan yang dimiliki.¹⁶ Selain itu, penelitian lain menunjukkan tingkat pendidikan berpengaruh secara signifikan terhadap rasionalitas penggunaan obat pada pengobatan sendiri, semakin tinggi tingkat pendidikan maka semakin rasional penggunaan obat. Berbagai faktor yang mempengaruhi tingkat pendidikan seseorang seperti pengaruh lingkungan, ekonomi maupun perhatian orang tua terhadap pendidikan anak.²⁰

Status Pekerjaan

Berdasarkan status pekerjaan responden didapatkan hasil bahwa pada status pekerjaan baik yang bekerja dan tidak bekerja masing-masing memiliki

kategori pengetahuan yang baik. Hasil penelitian lainnya menyatakan bahwa status pekerjaan juga mempengaruhi tingkat pengetahuan. Seseorang yang mempunyai aktivitas sosial di luar rumah akan lebih banyak mendapatkan informasi sehingga pengalaman yang didapatkan juga lebih banyak. Makin tinggi tingkat sosial ekonomi seseorang maka semakin banyak pengetahuan yang dimiliki.²¹ Setelah diberikan *posttest* pada responden tingkat pengetahuan responden yang bekerja dan tidak bekerja berada pada kategori baik dan mengalami peningkatan skor pengetahuan, artinya tidak terdapat pengaruh status pekerjaan terhadap tingkat pengetahuan. Perbedaan status pekerjaan pada penelitian lainnya juga menunjukkan hasil yang sama dimana secara statistik menunjukkan nilai *p value* sebesar 0,870.²²

Kriteria Pengetahuan Responden

Hasil pada Tabel 5 menunjukkan bahwa masyarakat Wilayah Kabupaten Karimun lebih dominan memiliki pengetahuan yang cukup tentang obat tradisional pada saat *pretest*. Terjadi perubahan skor yang signifikan dengan jumlah responden yang didominasi

Tabel 5. Jumlah dan Persentase Kriteria Pengetahuan Responden

No.	Kriteria Pengetahuan	Pretest		Posttest	
		Jumlah Responden	%	Jumlah Responden	%
1.	Baik	10	6,6	83	55,4
2.	Cukup	83	55,4	57	38
3.	Kurang	57	38	10	6,6

memiliki pengetahuan baik setelah pemberian intervensi. Awalnya responden yang berada pada kategori pengetahuan baik (saat *pretest*) hanya 10 responden meningkat jumlahnya menjadi 83 responden sedangkan jumlah responden yang pengetahuan pada kategori kurang berjumlah 57 responden berkurang menjadi 10 responden. Hal ini membuktikan bahwa masyarakat masih membutuhkan media untuk menunjang pengetahuan mereka terutama mengenai obat tradisional.

Dapat dilihat bahwa pengetahuan masyarakat tentang obat tradisional dikatakan baik setelah pemberian intervensi berupa media *e-booklet*. Pengetahuan seseorang dapat meningkat dengan diberikan suatu informasi melalui media. Media *e- booklet* menjadi salah satu media yang digunakan untuk meningkatkan pengetahuan seseorang yang di dalamnya berisi materi singkat dan jelas untuk mempermudah dalam memahami pengetahuan mengenai obat tradisional. *Design e-booklet* yang berbentuk buku elektronik yang memuat informasi lebih banyak sehingga responden cukup membaca informasi apa yang disampaikan.

Analisis Bivariat Perubahan Skor Pengetahuan *Pretest* dan *Posttest* Responden

Hasil dari analisis pengaruh perubahan skor pengetahuan pada saat *pretest* dan *posttest* menggunakan uji *Wilcoxon*. Hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan *p value* sebesar 0,000 dimana nilai tersebut lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa ada pengaruh yang signifikan antara *pretest* dan *posttest* pengetahuan responden. Hasil dari penelitian ini sejalan

dengan hipotesis penelitian bahwa terdapat pengaruh pemberian *e-booklet* terhadap tingkat pengetahuan dari *pretest* dan *posttest* pada kelompok perlakuan yang mana nilai *p value* lebih kecil dari 0,05. Hal ini sejalan dengan penelitian lainnya bahwa pemberian intervensi berupa edukasi berpengaruh terhadap tingkat pengetahuan (dengan *p value* 0,003).²³ Penelitian sejenis juga menyimpulkan bahwa responden dapat meningkatkan kembali pengetahuan yang diperoleh melalui media elektronik dan cetak yang dibuktikan dengan adanya peningkatan rata - rata nilai signifikan (*p value* = 0,000).²⁴ Pengetahuan tentang kesehatan dapat dibentuk melalui pemberian media informasi.¹⁶

KESIMPULAN

E-booklet dapat dipertimbangkan sebagai media edukasi karena telah dibuktikan dalam penelitian ini dengan meningkatnya pengetahuan masyarakat terkait penggunaan obat tradisional setelah diberikan media edukasi.

SARAN

Sebaiknya *E-booklet* yang telah dibuat oleh peneliti terus dikembangkan sehingga dapat digunakan sebagai media edukasi khususnya mengenai obat tradisional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Pusat Penelitian, Pengabdian pada Masyarakat (P3M) STIFAR RIAU atas dana yang diberikan untuk penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP).

DAFTAR RUJUKAN

1. Kayne SB. Introduction to Traditional Medicine. London: Pharmaceutical Press; 2010.
2. Buku Informatorium OMAI. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2020. Published online 2020
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. Jakarta: Menteri Kesehatan; 2018. Published online 2018.
4. Notoadmodjo S. Promosi Kesehatan dan Ilmu Perilaku. Jakarta: Rineka Cipta; 2010.
5. Gemilang R, Christiana E. Pengembangan Booklet Sebagai Media Layanan Informasi Untuk Pemahaman Gaya Hidup Hedonisme Siswa Kelas XI di SMAN 3 Sidoarjo. *Jurnal BK UNESA*, 2015;6(3): 3-9.
6. Ghazali P. Pengembangan Booklet Sebagai Media Pendidikan Kesehatan Reproduksi Pada Remaja Cacat Netra. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2009;1(1): 38-44.
7. Ndapaole AH, Sebastianus KT, Rosiana. Pengaruh Pendidikan Kesehatan dengan Media Booklet Terhadap Tingkat Kecemasan pada Penderita Hipertensi di Puskesmas Oepoi Wilayah Kerja Kota Kupang. *CHMK Nursing Scientific Journal*. 2020;4(1):162-170. doi:10.37792/thenursing.v4i1.582
8. Prasanti D. Potret Media Informasi Kesehatan Bagi Masyarakat Urban di Era Digital. *IPTEK-KOM*. 2017;19(2):149-162.
9. Duke CH, Yin J, Zhang X, Blankenship EB, Akuse, Shah GH, Fung ICH. Adopting Youtube to Promote Health: Analysis of State Health Departements. *The Permanente Journal*. 2019;23(1): 1-6. doi: 10.7812/tpp/18-094
10. Kabupaten Karimun Dalam Angka Tahun 2020. Karimun: Badan Pusat Statistika; 2020.
11. Riduwan A. Rumus dan Data dalam Analisis Data Statistika. Bandung: Alfabeta; 2010.
12. Badan dan Pengawas Obat dan Makanan. Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional. Jakarta: Kepala BPOM; 2019.
13. Arikunto S. Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik Edisi Revisi. Jakarta: PT Rineka Cipta; 2010.
14. Sunyonto D, Setiawan A. Buku Ajar Statistik Kesehatan Paramatrik, Non Paramatrik, Validitas dan Reliabilitas. Yogyakarta: Nuha Medika; 2013.
15. Musa LAD. Level Berfikir Geometri Menurut Teori Van Hiele Berdasarkan Kemampuan Geometri dan Perbedaan Gender Siswa Kelas VII SMPN 8 Pare-Pare. *Jurnal Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. 2016;4(2): 103-116. doi:10.24256/jpmipa.v4i2.255
16. Budiman A. Kapita Selekta Kuesioner: Pengetahuan dan Sikap Dalam Penelitian Kesehatan. Jakarta: Salemba Medika; 2013.
17. Kominfo. Penetrasi & Profil Perilaku Pengguna Internet Indonesia Tahun 2018. Jakarta: Asosiasi Penyelenggara Jasa Internet Indonesia; 2018.
18. Sari RP, Putra AMP, Masran U. Hubungan Pengetahuan dan Kebutuhan Pasien Terhadap Informasi Obat di Apotek Amandit Farma Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2018;4(2): 98-105. doi: 10.51352/jim.v4i2.188
19. Utaminingrum W, Lestari JE, Kusuma AM. Pengaruh Faktor-Faktor Sosiodemografi Terhadap Rasionalitas Penggunaan Obat Dalam Pengobatan Sendiri Pada Pasien Program Pengelolaan Penyakit Kronis (Prolanis). *Jurnal Farmasains*. 2015;2(6): 285-288.
20. Zulkarnain. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Tingkat Pendidikan Anak di Dusun Patre Desa mangkung Kecamatan Praya Barat. *Jurnal Jurusan Tadris IPS*. 2019;10(1):53-69. doi: 10.20414/society.v10i1.1488
21. Muflihatin SK, Komala I. Hubungan Motivasi dengan Kepatuhan Diet Diabetes pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe II di

- Puskesmas Sempaja Samarinda. *Jurnal Ilmu Kesehatan*. 2016;6(1):76-83.
22. Cahyaningsih I, Wiedyaningsih C, Kristina SA. Pengaruh Penyuluhan Terhadap Tingkat Pengetahuan Masyarakat Tentang Analgetik di Kecamatan Cangkringan Sleman. *Jurnal Mutiara Medika*. 2013;13(2): 98-104. doi: 10.18196/mmjkk.v13i2.1060
23. Ernawati, Bakhtiar, Tahlil T. Peningkatan Pengetahuan, Sikap Dan Tindakan Ibu Dalam Memberikan ASI Eksklusif Melalui Edukasi Kelompok. *Jurnal Ilmu Keperawatan* 2016;4(2): 34-45.
24. Wasludin. Efektifitas Media Elektronik dan Media Cetak Terhadap Pengetahuan HIV/AIDS pada Siswa SMP Negeri 4 Kota Tangerang. *Jurnal Media Informasi Kesehatan*. 2019;6(1): 11-18.doi: 10.36743/medikes.v6i1.90



Pengaruh Variasi Media Pertumbuhan terhadap Aktivitas Peredaman Radikal Bebas DPPH Ekstrak Kapang Endofit Isolat Cb.D1

Effect of Variations of Growth Media on DPPH Free Radical Scavenging Activity of Endophytic Fungi Cb.D1 Isolate Extract

Ayu Purnamasari¹, Fitri Andriyaningsih¹, Riska Andriani Pamungkas¹, Eris Septiana^{2*}

¹Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

²Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Bogor, Indonesia

*E-mail: septiana.eris@gmail.com

Kata kunci:

Antioksidan;
DPPH; Kapang
endofit Cb.D1;
Variasi media

Keywords:

Antioxidant;
DPPH;
Endophytic fungi
Cb.D1; Media
variation

Received:

09-06-2022

Revised:

22-07-2022

Accepted:

18-08-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,

2022;12(2):137-144

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.6029>

Abstrak

Kapang endofit merupakan salah satu sumber senyawa antioksidan di alam. Rendahnya perolehan ekstrak dan senyawa aktif yang dihasilkan menjadi salah satu faktor pembatas pemanfaatan kapang endofit sebagai sumber senyawa antioksidan alami. Modifikasi media pertumbuhan merupakan salah satu cara untuk mengatasi masalah tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi media yang meliputi sumber karbon dan nitrogen serta pH awal fermentasi yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan melalui peredaman radikal bebas DPPH ekstrak kapang endofit Cb.D1 yang diisolasi dari daun tanaman kayu manis. Perbanyakkan kultur menggunakan media cair basal *Czapek Dox Broth* dengan kecepatan agitasi 120 rpm pada suhu ruang selama 14 hari. Sumber karbon yang digunakan ialah glukosa, sukrosa, dan pati. Sumber nitrogen yang digunakan ialah natrium nitrat, amonium nitrat, dan *yeast extract*. Kondisi pH awal yang digunakan ialah pH 5, 7, dan 9 serta etil asetat sebagai pelarut ekstraksi. Hasil yang didapatkan yaitu penggantian sumber nitrogen, karbon, dan kondisi pH awal dapat meningkatkan perolehan biomassa ekstrak kapang endofit Cb.D1. Media pertumbuhan terbaik untuk perolehan biomassa ekstrak ialah yang mengandung glukosa, *yeast extract*, dan pH awal 9. Penggantian sumber nitrogen dan pH awal dapat meningkatkan aktivitas ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH dibandingkan dengan penggantian sumber karbon. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH tertinggi didapatkan dari ekstrak kapang endofit Cb.D1 yang ditumbuhkan pada media yang mengandung sukrosa dan natrium nitrat sebagai sumber karbon dan nitrogen serta pH awal 5. Variasi media pertumbuhan kapang endofit isolat Cb.D1 berpengaruh terhadap aktivitas ekstraknya dalam meredam radikal bebas DPPH.

Abstract

Endophytic fungi are a source of antioxidant compounds in nature. The low yield of extracts and active compounds produced is one of the limiting factors for using endophytic fungi as a source of natural antioxidant compounds. Modification of growth media is an alternative solution to overcome this problem. This study aimed to determine the effect of media conditions, belonging to carbon and nitrogen sources and different initial pH of fermentation, on the antioxidant through DPPH radical scavenging activity of extract of endophytic fungi Cb.D1 isolated from cinnamon plant leaves. The culture was propagated using Czapek Dox Broth basal liquid medium with agitation speed 120 rpm at room temperature for 14 days. The carbon sources used were glucose, sucrose, and soluble starch. The nitrogen sources were natrium nitrate, ammonium nitrate, and yeast extract. The initial pH conditions used were 5, 7, and 9, and ethyl acetate as the extraction solvent. The results obtained that the variation of nitrogen and carbon sources and also initial pH conditions can increase the yield of extract of endophytic fungi Cb.D1. Glucose, yeast extract, and initial pH at 9 were the best growth media to gain it. The substitution of nitrogen sources and initial pH can increase the DPPH free radical scavenging activity of endophytic fungal extract compared to substitution for carbon sources. The highest activity from the Cb.D1 endophytic fungal extract was obtained from media that contain sucrose and natrium nitrate as a carbon and nitrogen sources and an initial pH of 5. The Variation of growth media of endophytic fungi Cb.D1 affected their extract in DPPH free radical scavenging activity.

PENDAHULUAN

Fungi berfilamen (kapang) menghasilkan senyawa metabolit sekunder penting seperti alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan senyawa fenol yang berkhasiat sebagai antibiotik, antikanker, antitumor, antidiabetes, antimalaria, dan antioksidan.¹ Kemampuan kapang untuk dapat tumbuh dengan baik dalam skala besar dan pemurnian produk hasil metabolismenya yang relatif mudah merupakan salah satu keuntungan penggunaan kapang secara komersial.² Kapang endofit adalah kapang yang hidup dalam jaringan tanaman dan secara umum melakukan hubungan timbal balik yang positif dengan tanaman inangnya.³ Kapang endofit merupakan salah satu sumber eksplorasi senyawa metabolit sekunder yang penting dalam dunia kesehatan saat ini.⁴ Beberapa kapang endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan.⁵

Perbanyakkan kapang endofit melalui teknik fermentasi cair menggunakan media umum yang telah tersedia seringkali didapatkan hasil ekstrak yang tidak terlalu banyak jumlahnya. Hal ini dapat dikarenakan setiap kapang memiliki kondisi media pertumbuhan yang spesifik, terutama untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder tertentu. Oleh karena itu peningkatan hasil ekstrak yang mengandung senyawa metabolit sekunder sangat penting guna mencukupi kebutuhan bahan aktif dalam skala besar. Salah satu cara untuk mencapai hal tersebut ialah dengan memodifikasi komposisi bahan dalam media fermentasi maupun kondisi lingkungan tumbuhnya seperti pH, sumber karbon, sumber nitrogen, waktu inkubasi, suhu dan pelarut untuk ekstraksi.⁶

Peningkatan radikal bebas dapat meningkatkan patogenesis dari beberapa penyakit pada manusia. Dalam batas normal, tubuh mempunyai kemampuan pertahanan alami dalam menanggulangi meningkatnya radikal bebas. Senyawa superoksida dapat diredam oleh senyawa antioksidan. Antioksidan menjadi topik

yang menarik saat ini karena kemampuannya dalam melindungi tubuh manusia dari serangan beberapa penyakit yang disebabkan oleh reaksi radikal bebas. Penggunaan antioksidan sintetis untuk melindungi dari kerusakan akibat radikal bebas telah dilaporkan menimbulkan efek samping yang berbahaya. Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian sumber antioksidan baru yang berasal dari alam.⁷

Pencarian senyawa kimia yang berpotensi sebagai antioksidan dari alam terus dilakukan. Tanaman obat merupakan alternatif terapi karena relatif lebih aman dibandingkan dengan obat sintetis. Beberapa tanaman obat telah digunakan secara turun temurun sebagai obat tradisional dan mengandung senyawa antioksidan diantaranya ialah kayu manis. Bagian tanaman kayu manis yang umum dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah kulit batangnya. Hal ini karena kulit batang kayu manis mengandung beberapa senyawa aktif sebagai bahan obat, khususnya senyawa dengan aktivitas antioksidan.⁸ Selain bagian kulit batangnya, daun kayu manis juga memiliki potensi pemanfaatan yang tinggi. Secara tradisional, daun kayu manis biasa digunakan sebagai bahan makanan.⁹ Selain itu, ekstrak daun kayu manis memiliki kandungan senyawa antioksidan.¹⁰

Kapang endofit Cb.D1 merupakan kapang endofit yang diisolasi dari daun tanaman kayu manis asal Bogor. Alasan pemilihan bagian daun dari tanaman kayu manis sebagai sumber kapang endofit adalah bagian daun jarang dimanfaatkan, melimpah, dan mudah didapatkan dibanding bagian kulit batang yang merupakan bagian utama dalam komoditas perdagangan. Secara makroskopis kapang ini memiliki karakter permukaan berwarna putih dengan bagian tepi berwarna kecoklatan, permukaan seperti bludru, pola pertumbuhan melingkar, warna sebalik jingga kehitaman (Gambar 1). Kapang endofit isolat Cb.D1 pada penelitian sebelumnya diketahui memiliki aktivitas antidiabetes dan antioksidan.⁵ Oleh karena

itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi media yang meliputi sumber karbon dan nitrogen serta pH awal fermentasi yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan kapang endofit Cb.D1.



Gambar 1. Penampakan secara makroskopis kapang endofit isolat Cb.D1. Tampak permukaan (kiri) dan tampak sebalik (kanan)

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah *rotary vacuum evaporator* (*rotavapor*) (Stuart), spektrofotometer uv-vis (Hitachi U-3900H), *cuvette* (Hellma), *laminar air flow* (Biobase), timbangan analitik (Precisa 240A), *waterbath incubator* (Grant), oven (Jouan), *magnetic stirrer hotplate* (Thermolyne), sonikator (Branson), *shaker* (Thermolyne), corong Buchner, Erlenmeyer, *microtube* (Axygen), tabung reaksi skala, labu ukur, mikropipet (Eppendorf), tip mikropipet (Axygen), autoklaf (Tomy) dan alat gelas lainnya.

Bahan yang digunakan ialah stok isolat kapang endofit dengan kode isolat Cb.D1. Isolat kapang endofit tersebut diisolasi dari daun tanaman kayu manis yang berasal dari kawasan Agrowisata Gunung Mas, Bogor yang secara ringkas prosesnya adalah sebagai berikut. Daun dicuci bersih, dilakukan sterilisasi permukaan dengan etanol 70%, natrium hipoklorit 5,3% dan etanol 70% secara berurutan. Dipotong 1x1 cm dan ditanam di media *Potato Dextrose Agar* (PDA) pada suhu kamar sampai kapang endofit muncul. Kapang yang tumbuh dimurnikan ke media PDA baru. Isolat yang tumbuh kemudian ditumbuhkan pada media PDA agar miring

dan disimpan pada suhu 4°C sebagai isolat stok¹¹, DPPH (Sigma), asam askorbat (Sigma), sodium nitrat (Merck), amonium nitrat (Merck), *yeast extract* (Difco), sukrosa (Merck), D(+)- glukosa (Merck), pati larut air (Merck), asam klorida 37% (Merck), natrium hidroksida (Merck), dikalium fosfat (Merck), besi (II) sulfat heptahidrat (Merck), kalium klorida (Merck), magnesium sulfat heptahidrat (Merck), metanol (Merck, for analysis 99%), etil asetat teknis 96%, etanol teknis 70%, *Potato Dextrose Agar* (Difco), dan akuades.

Prosedur kerja

Fermentasi dan ekstraksi kapang endofit

Isolat kapang endofit yang digunakan ialah stok isolat kapang endofit dari daun tanaman kayu manis (yang sebelumnya telah diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI sebagai *Cinnamomum burmanni* dengan nomor: 2444/IPH.1.01/If.07/XI/2017) asal Bogor dengan kode isolat Cb.D1. Media basal fermentasi yang digunakan ialah media *Czapek Dox Broth* (CDB) dengan komposisi bahan penyusun meliputi sukrosa (30 g/L), natrium nitrat (2 g/L), dikalium fosfat (2 g/L), besi (II) sulfat heptahidrat (0,01 g/L), kalium klorida (0,5 g/L), magnesium sulfat heptahidrat (0,5 g/L) dengan pH awal 7.¹² Variasi media pertumbuhan meliputi sumber karbon yaitu dengan menambahkan glukosa dan pati larut air masing-masing sebanyak 30 g/L sebagai pengganti sukrosa, sumber nitrogen yaitu dengan menambahkan amonium nitrat, dan *yeast extract* masing-masing sebanyak 2 g/L sebagai pengganti natrium nitrat, dan dengan mengubah pH awal fermentasi pada media basal CDB menjadi 5 dan 9.

Stok isolat kapang endofit Cb.D1 kemudian diremajakan pada media PDA dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar. Isolat kapang endofit umur 7 hari kemudian diambil menggunakan pelubang

steril berdiameter 6 mm sebanyak 2 buah dan dipindahkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media fermentasi. Fermentasi dilakukan pada kecepatan agitasi sebesar 120 rpm selama 14 hari pada suhu ruang. Setelah 14 hari, media pertumbuhan disaring menggunakan kertas saring steril dalam corong Buchner hampa udara untuk memisahkan filtrat dan biomassa. Filtrat diekstraksi dengan etil asetat sebanyak 3 kali dalam corong pisah dan dipekatkan menggunakan labu penguap putar hampa udara sampai diperoleh ekstrak kering pekat, sedangkan biomassa dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C lalu ditimbang.¹³

Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH¹⁴ dengan modifikasi pada panjang gelombang dari 515 nm menjadi 517 nm. Konsentrasi larutan uji sebesar 200; 400; 600; 800; 1000 ppm untuk mengetahui nilai IC₅₀ variasi media secara keseluruhan dan konsentrasi tunggal 1000 ppm digunakan pada perlakuan penggantian sumber karbon, nitrogen, dan pH awal pertumbuhan. Pemilihan seri konsentrasi tersebut didasarkan pada aktivitas peredaman radikal bebas DPPH isolat kapang Cb.D1 pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) yang sebelumnya telah dilaporkan.⁵ Asam askorbat (vitamin C) sebagai kontrol positif sebesar 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm, serta DPPH kontrol 0,4 mM. Seluruh sampel larutan uji, kontrol dan vitamin C diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dengan masing-masing 3 kali pengulangan. Serapan seluruh sampel kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH didapatkan dengan menggunakan persamaan (1) dan nilai IC₅₀ yang merupakan bilangan dari konsentrasi sampel uji yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%, diperoleh dengan cara dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan %

aktivitas peredaman radikal bebas (sumbu y).

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

Keterangan: A = serapan blanko
B = serapan bahan uji

Analisis data

Data yang diperoleh berupa aktivitas peredaman radikal bebas DPPH pada masing-masing kelompok perlakuan sumber karbon, nitrogen, pH awal fermentasi, dan variasi media dianalisis dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) *One Way*, kemudian bila terjadi perbedaan signifikan dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) masing-masing pada tingkat kepercayaan sebesar 95% untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Variasi media pertumbuhan kapang endofit Cb.D1 berpengaruh terhadap rendemen biomasanya. Nilai rendemen biomassa berkisar antara 0,1160-1,4546 g/100 mL. Rendemen terendah didapatkan pada media pertumbuhan yang mengandung glukosa dan natrium nitrit sebagai sumber karbon dan nitrogen serta pada pH awal pertumbuhan sebesar 7. Rendemen tertinggi didapatkan pada media pertumbuhan yang mengandung sukrosa dan *yeast extract* sebagai sumber karbon dan nitrogen serta pada pH awal pertumbuhan sebesar 7 (Tabel 1). Pengaruh sumber karbon yang berbeda pada aktivitas peredaman radikal bebas kapang endofit menunjukkan bahwa penggantian sumber karbon dari sukrosa sebagai komponen media basal menjadi glukosa dan pati dapat meningkatkan kemampuan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH kapang endofit Cb.D1 secara signifikan menurut analisis statistik radikal bebas DPPH kapang endofit Cb.D1 secara signifikan menurut analisis statistik yang digunakan (Gambar 2). Sumber karbon glukosa menghasilkan perolehan

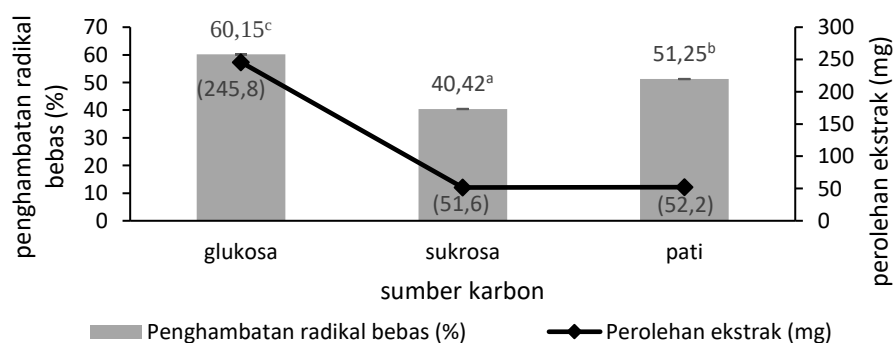
ekstrak dan kemampuan aktivitas peredaman radikal bebas tertinggi secara statistik dibandingkan dengan sumber karbon sukrosa ataupun pati. Karbohidrat merupakan senyawa yang berperan penting dalam pertumbuhan maupun produksi senyawa metabolit sekunder.¹⁵ Perbedaan sumber karbon akan mempengaruhi metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang endofit. Glukosa dilaporkan merupakan sumber karbon yang paling sesuai dibandingkan dengan sumber karbon lainnya untuk produksi metabolit sekunder antikanker dari kapang endofit *Curvularia lunata* BioMCC FE-00283.¹⁶

Pengaruh sumber nitrogen yang berbeda pada aktivitas peredaman radikal bebas kapang endofit menunjukkan bahwa hanya penggantian sumber nitrogen dari natrium nitrat sebagai komponen media basal menjadi amonium nitrat maupun *yeast extract* tidak dapat meningkatkan kemampuan aktivitas peredaman radikal bebas kapang endofit Cb.D1. Penggunaan sumber nitrogen natrium nitrat pada media basal memiliki aktivitas penghambatan radikal bebas tertinggi yang secara statistik

berbeda signifikan dengan kedua sumber nitrogen lain yang digunakan (Gambar 3). Akan tetapi perolehan ekstrak jauh lebih tinggi dan secara statistik berbeda signifikan dibandingkan sumber nitrogen lainnya jika menggunakan *yeast extract* sebagai sumber nitrogen. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa media fermentasi yang mengandung sumber nitrogen natrium nitrat akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai antioksidan yang lebih tinggi aktivitasnya dibandingkan dengan sumber nitrogen lainnya.² Seperti halnya sumber karbon, sumber nitrogen juga sangat penting pengaruhnya bagi pertumbuhan kapang. Nitrogen merupakan unsur utama dalam pembangunan sel terlebih juga dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Secara umum media merupakan media dengan komposisi nitrat sebagai sumber nitrogen. Media ini sangat sesuai untuk menumbuhkan kapang dengan tujuan memperoleh metabolit sekunder, khususnya yang mempunyai aktivitas antioksidan.²

Tabel 1. Rendemen biomassa kapang endofit Cb.D1 pada variasi sumber karbon, nitrogen, dan pH awal

Sampel	Sumber karbon	Sumber nitrogen	pH awal	Rendemen biomassa (g/100 mL)
Media 1	Sukrosa	Natrium nitrat	7	0,4155
Media 2	Sukrosa	Amonium nitrat	7	0,3189
Media 3	Sukrosa	<i>Yeast extract</i>	7	1,4546
Media 4	Glukosa	Natrium nitrat	7	0,1160
Media 5	Pati	Natrium nitrat	7	0,2161
Media 6	Sukrosa	Natrium nitrat	5	0,6367
Media 7	Sukrosa	Natrium nitrat	9	0,5088



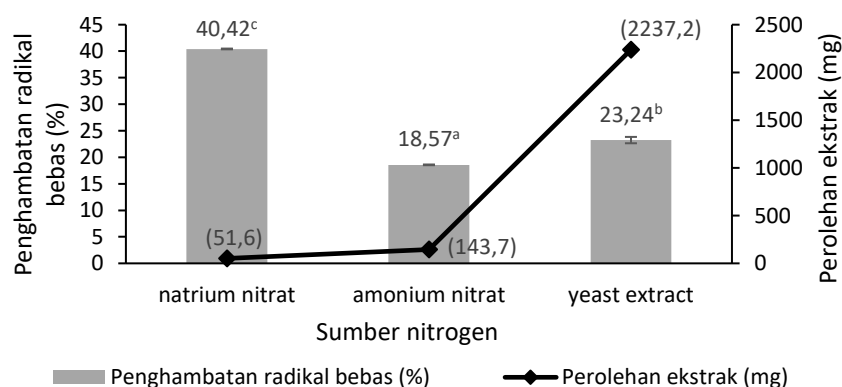
Gambar 2. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1 mg/mL) dan perolehan bobot ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Cb.D1 dengan sumber karbon yang berbeda. Angka yang diikuti huruf yang sama pada nilai peredaman radikal bebas tidak berbeda signifikan pada uji lanjut Duncan ($\alpha=0,05$)

Pengaruh pH awal yang berbeda pada aktivitas peredaman radikal bebas DPPH kapang endofit Cb.D1 menunjukkan bahwa perubahan kondisi keasaman awal media basal dari pH 7 menjadi pH 5 dan pH 9 dapat meningkatkan kemampuan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH kapang endofit Cb.D1. Tingkat keasaman media awal pertumbuhan pada pH 5 memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH yang paling tinggi dan berbeda signifikan secara statistik dibandingkan dengan nilai pH awal pertumbuhan lainnya, meskipun di sisi lain memiliki bobot ekstrak yang paling rendah (Gambar 4). Hal ini sejalan dengan penelitian¹⁷ yang melaporkan bahwa kapang endofit *Aspergillus terreus* KC 582297 menghasilkan metabolit sekunder antimikroba pada kisaran pH asam dengan kondisi optimal terbentuknya senyawa aktif pada pH awal kisaran 5,5.

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pH awal fermentasi berpengaruh terhadap metabolit sekunder yang dihasilkan kapang. Secara umum kapang

akan menghasilkan metabolit sekunder antioksidan pada kisaran pH 5-7, dan tidak ditemukan senyawa bioaktif pada pH terlalu ekstrim.² Kondisi pH yang kurang sesuai akan menyebabkan terjadinya produksi metabolit yang tertunda akibat terhambatnya pertumbuhan miselia atau bahkan produksi metabolit bioaktif akan menurun.¹⁵ Selain itu pH juga berhubungan dengan karakteristik permeabilitas dari dinding sel dan membran sehingga berpengaruh terhadap pengambilan dan kehilangan ion pada media nutrisi pertumbuhannya.²

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH variasi media pertumbuhan dapat dilihat pada Tabel 2. Sebagai pembanding, aktivitas peredaman radikal bebas DPPH vitamin C sebagai kontrol positif sebesar $3,48 \pm 0,02$ ppm. Variasi komposisi dan kondisi media pertumbuhan secara umum berpengaruh signifikan secara statistik terhadap kemampuan kapang endofit Cb.D1 untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH.

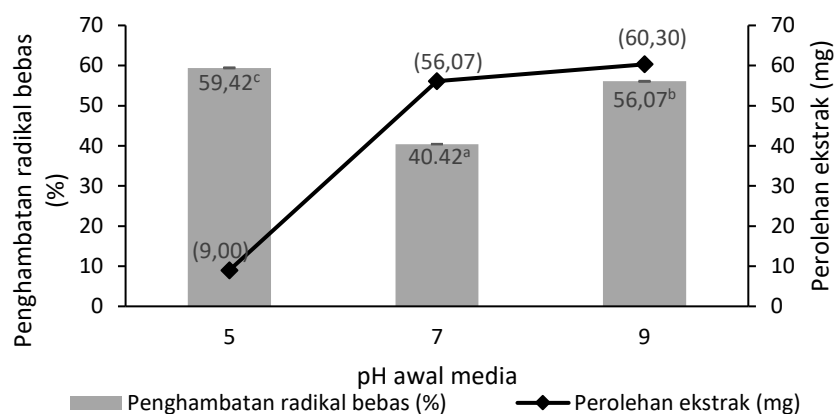


Gambar 3. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1 mg/mL) dan perolehan bobot ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Cb.D1 dengan sumber nitrogen yang berbeda. Angka yang diikuti huruf yang sama pada nilai peredaman radikal bebas tidak berbeda signifikan pada uji lanjut Duncan ($\alpha=0,05$)

Tabel 2. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Cb.D1 pada variasi sumber karbon, nitrogen, dan pH awal

Sampel	Sumber karbon	Sumber nitrogen	pH awal	IC ₅₀ ± SD (ppm)
Media 1	Sukrosa	Natrium nitrat	7	1404,27 ^e ±24,83
Media 2	Sukrosa	Amonium nitrat	7	2850,66 ^a ±0,80
Media 3	Sukrosa	Yeast extract	7	2641,14 ^f ±42,89
Media 4	Glukosa	Natrium nitrat	7	785,73 ^b ±0,95
Media 5	Pati	Natrium nitrat	7	872,05 ^d ±2,98
Media 6	Sukrosa	Natrium nitrat	5	673,67 ^a ±2,55
Media 7	Sukrosa	Natrium nitrat	9	794,60 ^{bc} ±3,30

Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda signifikan pada uji lanjut Duncan ($\alpha=0,05$)



Gambar 4. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1 mg/mL) dan perolehan bobot ekstrak etil asetat filtrat kapang endofit Cb.D1 dengan pH awal yang berbeda. Angka yang diikuti huruf yang sama pada nilai peredaman radikal bebas tidak berbeda signifikan pada uji lanjut Duncan ($\alpha=0,05$)

Penggantian sumber nitrogen pada media basal CDB tidak dapat meningkatkan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak yang dihasilkan. Akan tetapi, penggantian sumber karbon dan kondisi pH awal pertumbuhan dapat meningkatkan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak yang dihasilkan. Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH tertinggi didapatkan pada media dengan penggantian pH awal pertumbuhan menjadi lebih asam yaitu pada pH 5 dengan IC_{50} sebesar 673,67 ppm. Secara umum, nilai IC_{50} ekstrak kapang endofit berkisar antara 673,67-2850,66 ppm. Jika dilihat dari penggolongan aktivitas antioksidan melalui peredaman radikal bebas DPPH berdasarkan nilai IC_{50} , ekstrak kapang endofit memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.¹⁸ Akan tetapi, aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak kapang endofit Cb.D1 dalam media basal CDB pada penelitian ini mengalami peningkatan yaitu sebesar 40,42% dibandingkan dengan isolat yang sama yang ditumbuhkan pada media PDB yang memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH sebesar 38,61% pada konsentrasi yang sama yaitu 1 mg/mL.⁵ Kapang endofit Cb.D1 akan menghasilkan ekstrak dengan aktivitas peredaman radikal bebas terbaik pada media yang mengandung sukrosa dan natrium nitrat

sebagai sumber karbon dan nitrogen serta pada kondisi pH awal 5.

KESIMPULAN

Variasi media pertumbuhan kapang endofit isolat Cb.D1 berpengaruh signifikan secara statistik terhadap aktivitas ekstrak dalam meredam radikal bebas DPPH.

SARAN

Perlu penelitian lanjutan untuk mencari kondisi pertumbuhan kapang endofit isolat Cb.D1 yang optimal baik dari segi perolehan ekstrak aktif maupun aktivitas antioksidannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Yadi atas asistensinya dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Wen J, Okyere SK, Wang S, Wang J, Xie L, Ran Y, et al. Endophytic fungi: an effective alternative source of plant-derived bioactive compounds for pharmacological studies. *Journal of Fungi*. 2022;8(205):1-45.
2. Arora DS, Chandra P. Assay of antioxidant potential of two *Aspergillus* isolates by different methods under various physio-chemical conditions. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010;41(3):765-77.
3. Hyde KD, Xu J, Rapior S, Jeewon R, Lumyong S, Niego AGT, et al. The

- amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity* [Internet]. 2019;97(1):1–136. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00430-9>
4. Tiwari P, Bae H. Endophytic fungi: key insights, emerging prospects, and challenges in natural product drug discovery. *Microorganisms*. 2022;10(2):1–43.
5. Septiana E, Rachman F, Hapsari Y, Yadi, Bustanussalam, Rahmawati SI, et al. The potential of endophytic fungal extract isolated from Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) as antidiabetic and antioxidant. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 2019;22(6):275–82.
6. Bhattacharyya P, Jha DK. Optimization of cultural conditions affecting growth and improved bioactive metabolite production by a subsurface *Aspergillus* strain. *Ijabptcom* [Internet]. 2011;(4):133–43. Available from: [http://www.ijabpt.com/pdf/29021-Dhruva Kumar\[1\].pdf](http://www.ijabpt.com/pdf/29021-Dhruva Kumar[1].pdf)
7. Rico M, Sánchez I, Trujillo C, Pérez N. Screening of the antioxidant properties of crude extracts of six selected plant species from the Canary Islands (Spain). *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 2013;86(1):217–20.
8. Ervina M, Nawu YE, Esar SY. Comparison of in vitro antioxidant activity of infusion, extract and fractions of Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) bark. *International. Food Research Journal*. 2016;23(3):1346–50.
9. Anggraini T, Novendra V, Novelina N. Antioxidant activity of *Archidendron pauciflorum*, *Syzygium oleana*, *Mangifera indica*, *Theobroma cacao* and *Cinnamomum burmannii* young leaves and their application as jelly drink colourants. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2018;17(10):492–9.
10. Yang CH, Li RX, Chuang LY. Antioxidant activity of various parts of *Cinnamomum cassia* extracted with different extraction methods. *Molecules*. 2012;17(6):7294–304.
11. Septiana E, Bustanussalam, Yadi, Rachman F, Hapsari Y, Izzati FN, et al. Antioxidant activity of endophytic fungi from young and old leaves of cinnamon plants from Bogor, Indonesia. *IOP Conference Series Earth Environmental Science*. 2021;762(1):1–10.
12. Desai UA, Andoji YS, Kamble SS. Influence of temperature and different culture media on growth of *Fusarium udum* (Butler), causal organism of wilt of pigeonpea. *International Journal of Biological Research* 2016;4(1):42–5.
13. Septiana E, Simanjuntak P. Pengaruh kondisi kultur yang berbeda terhadap aktivitas antioksidan metabolit sekunder kapang endofit asal akar kunyit. *Majalah Obat Tradisional*. [Internet]. 2017;22(1):31–6. Available from: <http://journal.ugm.ac.id/tradmedj/article/view/24308>
14. Tiwari V, Shanker R, Srivastava J, Vankar PS. Change in antioxidant activity of spices-turmeric and ginger on heat treatment. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. [Internet]. 2006;5(2):1313–7. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/234002731>
15. Abo-Elmagd HI. Evaluation and optimization of antioxidant potentiality of *Chaetomium madrasense* AUMC 9376. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. [Internet]. 2014;12(1):21–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2014.03.002>
16. Prabandari EE, Irawadi TT, Sumaryono W, Syamsu K. Selection of carbon and nitrogen source for 8-hydroxy 9, 12-octadecadienoic acid production using endophytic fungi *Curvularia lunata* BioMCC FE-00283. *Microbiology Indonesia*. 2011;5(4):187–91.
17. Mathan S, Subramanian V, Nagamony S. Optimization and antimicrobial metabolite production from endophytic fungi *Aspergillus terreus* KC 582297. *European Journal of Experimental Biology*. [Internet]. 2013;3(4):138–44. Available from: www.pelagiaresearchlibrary.com
18. Emelda A. Polyphenol total content, IC50 and antioxidant activities of ethanol extract from some cocoa (*Theobroma cacao*) beans in South Sulawesi Indonesia. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015;7(4):1211–4.



Determination of HPLC Chromatogram Profile of Katuk (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P. Balakr) Plants from Ristoja's Results using Chemometric Analysis

*Penetapan Profil Kromatogram HPLC Tanaman Katuk (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P. Balakr) dari Hasil Ristoja Menggunakan Analisis Kemometrik*

Nanang Yunarto¹, Sukmayati Alegantina^{2*}, Ani Isnawati²

¹National Institute of Health Research and Development, Ministry of Health, Jakarta, Indonesia

²National Research and Innovation Agency, Jakarta, Indonesia

*E-mail: alegantina@yahoo.com

Abstract

Keywords:
Breynia androgyna;
Chromatogram
profile; HPLC;
Chemometric

Kata kunci:
Breynia androgyna; Profil
kromatogram;
HPLC;
Kemometrik

Received:
16-06-2022
Revised:
29-07-2022
Accepted:
18-08-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(2):145-154

DOI:
<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.6040>

The katuk plant was known as *Sauropus androgynous* (L.) Merr, but the name is changed to *Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P. Balakr since the publication of Chakrab's & N.P. Balakr in the 2012 Journal of Plant Taxonomists. The content of chemical compounds and secondary metabolites of katuk leaf are strongly influenced by different habitat or location. Therefore, the Center for Research and Development of Medicinal Plants and Traditional Medicines, National Institute of Health Research and Development (NIHRD) has conducted Research on medicinal plants and herbs (RISTOJA) results on 58 samples of katuk plants originating from 7 provinces and used by 13 ethnic groups in Indonesia. This study aims to obtain plant quality based on the description of the High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) chromatogram profile, in order to obtain the suitability of the efficacy of medicinal plants with their benefits for the community in an area. Test using HPLC with a gradient mobile phase, a mixture of acetonitrile and methanol for 60 minutes. The results of the chromatogram were analyzed chemometric by using Principal Component Analysis (PCA) data interpretation. PCA results showed that from HPLC chromatograms at 254 nm and 366 nm, each gave 3 different clusters, namely clusters A, B and C where each cluster has the same chromatogram profile of katuk plants. Cluster A which was identified at a wavelength of 254 nm was the most used cluster by 7 ethnic groups with a total of 28 katuk samples. Similarly, the chromatogram at a wavelength of 366 nm with the largest cluster is cluster A which is used by 11 ethnic groups with a total of 45 samples of katuk plants. where each cluster had the same chromatogram profile of katuk Plants.

Abstrak

Tanaman katuk dikenal sebagai *Sauropus androgynous* (L.) Merr, namun namanya diubah menjadi *Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P. Balakr sejak publikasi Chakrab's & N.P. Balakr di Jurnal Taksonomi Tumbuhan 2012. Kandungan senyawa kimia dan metabolit sekunder daun katuk sangat dipengaruhi oleh habitat atau lokasi tumbuh yang berbeda. Oleh karena itu, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B₂P₂TOOT), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes) telah melakukan Riset Tanaman Obat dan Jamu (RISTOJA) untuk tanaman katuk sebanyak 58 sampel yang berasal dari 7 provinsi dan digunakan oleh 13 etnis di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh mutu tanaman berdasarkan gambaran profil kromatogram High Performance Liquid Chromatography (HPLC), guna mendapatkan kesesuaian khasiat tanaman obat dengan kemanfaatannya untuk masyarakat di suatu daerah. Pengujian menggunakan HPLC dengan fase gerak gradien, campuran asetoniitril dan metanol selama 60 menit. Hasil kromatogram HPLC dianalisis secara kemometrik dengan menggunakan interpretasi data Principal Component Analysis (PCA). Hasil PCA menunjukkan bahwa dari kromatogram HPLC pada 254 nm dan 366 nm, masing-masing memberikan 3 kluster yang berbeda yaitu kluster A, B dan C dimana tiap kluster mempunyai profil kromatogram tanaman katuk yang sama. Kluster A yang diidentifikasi pada panjang gelombang 254 nm merupakan kluster terbanyak digunakan oleh 7 etnis dengan jumlah 28 sampel katuk. Demikian pula kromatogram pada panjang gelombang 366 nm dengan kluster terbanyak adalah kluster A yang digunakan oleh 11 etnis dengan jumlah 45 sampel tanaman katuk.

INTRODUCTION

Utilization of katuk leaves in Indonesia is widely consumed by mothers who have given birth to increase milk production, because of the high nutritional content of katuk leaves.^{1,2,3,4} Based on the results of molecular studies by T. Chakrabarty and N.P. Balakrishnan in 2012 published in the Journal Plant Taxon 2012 (December) stated that the name *Sauropus androgynous* became *Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P. Balakr.⁵ However, until now there are still many researchers who do not know about the name change, it is proven that there are still many publications that use *Sauropus androgynous* for the katuk plant.^{2,6,7} The part of the katuk plant that is commonly used is the leaf. Chemical compounds contained in katuk leaves can vary depending on the type of extraction, harvest time, place of growth and climate (weather), beside that the drying process will affect the levels and composition of compounds contained in the plant.⁸ Several drying methods on herbs are carried out to obtain optimal content, and the water content is reduced so that it can be stored for a long time. Drying is done, among others, using the sun, oven or freeze-drying and aerated.

In the cinnamomum plant which was extracted with methanol and water, it was found that the sun-dried samples had degraded total phenolics and flavonoids compared to fresh samples.⁸ Research using air drying compared to using oven drying gave higher total phenolic content, antioxidant activity and flavonoids than using oven drying.⁹

Katuk leaves have been widely studied for their chemical content, ethanol extract of katuk leaves contains alkaloids, flavonoids, terpenoids, tannins, glycosides.¹⁰ Alkaloid and sterol compounds are thought to have effectiveness on breast milk production.¹¹ One of the effects of the content of secondary metabolites is the place of

growth. This is one of the objectives of Research on Medicinal Plants and Herbs (Ristoja) conducting research on medicinal plants in several provinces in Indonesia. One of the plants that Ristoja sampled was the katuk plant. Ristoja's research samples came from various regions in Indonesia. The distribution of the katuk plant from Ristoja comes from 13 ethnic groups in the territory of Indonesia, which come from 7 provinces including West Kalimantan, Maluku, NTB, NTT, Papua, West Papua, Central Sulawesi.

To determine Chromatogram profile of Katuk leaves from various regions in Indonesia, the chemical content of katuk leaves was measured using the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. Measurement conditions using a PDA detector, column C18 column 5.0 μ m x 4.6 x150 mm, flow rate 1.0 ml/min to obtain intensity data for each test sample and analyzed using the chemometric method. The data obtained are grouped based on the tendency of the similarity of chemical compounds, then from the results obtained it will be possible to know the chemical profile of katuk leaves from Ristoja's results which are spread in several regions in Indonesia.

Chemometric analysis is a statistical and mathematical science that is used to process chemical data. While Principal Component Analysis (PCA) is used for grouping data, looking at the quality diversity of different geographical conditions

Therefore, it is necessary to determine the profile of the Katuk plant as a result of Ristoja's research from 7 provinces consisting of 13 ethnicities. As Nuryani's research conducted control of the quality of orthosiphon leaves on the diversity of 3 regions that have different geographies, using PCA and Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLSDA) chemometric analysis.¹²

METHOD

Material and Equipment

The material to be tested is katuk leaf (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P. Balakr) obtained from RISTOJA in 7 provinces (13 ethnicities) of Indonesia (NTT, NTB, West Kalimantan, Central Sulawesi, Maluku, West Papua, and Papua). The solvents used were methanol HPLC grade (Merck, Germany) distilled water (IKA), HPLC grade acetonitrile (Merck, Germany), andrographolide standard (Sigma-Aldrich)

Equipment. One set of HPLC (Waters 2695, detector PDA, column C18 5,0 μ m x 4,6x150 mm (Waters) analytical balance (Ohaus), oven (Mettler)

Preparation sample

The katuk plant to be tested is first determined in the laboratory of Medicinal Plant and Tradisional Medicine, Tawangmangu, Central Java.

Processing

Sample preparation

Katuk leaves (*Breynia androgyna* (L.) Chakrab. & N.P. Balakr) were separated from the twigs and cleaned of impurities, washed and dried in an oven at 50°C for a day and night. The sample was made in powder form and then put 150 mg into a closed tube measuring 1.5 ml. and loaded into the Brospec Mini Beadbeater-16. The tool runs for 30 seconds 1-2 times, each time the tool is run for 30 seconds with a pause of 60 seconds until the test sample becomes a fine powder. The bead (gotri) is removed then the sample is stored and tightly closed.

Preparation of test solution

The test sample that has been in the form of a fine powder is weighed as much as 100 mg and put into a 25 ml capped bottle, then 10 ml of methanol is added, then close tightly and let stand overnight at room temperature protected from sunlight. Then the sample was filtered with a 0.45 μ m syringe filter and the filtrate was

put into a closed microtube. Store at room temperature protected from light and HPLC examination was carried out before 24 hours.

Optimization and performance testing

Before starting HPLC measurements, it is necessary to optimize the gradient system, flow rate, injection volume and required elution time. Performance tests were carried out to ensure measurements with HPLC were running well. Performance tests were carried out using the Andrographolid standard. Andrographolid is not a compound present in the katuk plant, but the function of using the standard in this HPLC performance test is to ensure that the HPLC tool used is running well, with constant peaks produced at standard repetitions in every 10 test samples.

Measurement of test solution

Before measuring the test solution, we must measure the blank using methanol. The base line of the blank solution chromatogram must contain a signal <3x noise, where a blank measurement is performed every 10 injections of the test solution. This was done to ensure that the base line was maintained and standard Andrographolid injection was performed after every 10 injections of the test solution. Before the end of the test, it is necessary to flush with 100% distilled water for 15 minutes and 100% methanol/acetonitrile for 15 minutes.

Chemometric data analysis

Chromatogram data obtained from HPLC measurements are most often used to identify chemical compounds of many plants combined with chemometrics using Uncramble 9.7 Software and continued with *Principal Component Analysis* (PCA) analysis. PCA analysis is a method that is often used to process multivariate data with unknown samples, or a multiple variable analysis method that aims to simplify the observed variables by

shrinking (reducing) their dimensions. Chromatograms of katuk plants belonging to the same ethnic group were put together. If any chromatogram is very different from the other chromatograms, then the different chromatograms are excluded. Chromatogram mean yield for each ethnicity was analyzed by PCA. Next, grouping based on the tendency of PC1, PC2 and PC3 according to the obtained chromatogram uniformity.

RESULT AND DISCUSSION

Total samples are 58 samples from Ristoja's 2017, katuk leaf test were collected from 7 provinces in Indonesia. The local name of this katuk plant varies depending on the origin ethnicity where the sample comes from. Local names, origins and ethnicities where the katuk

plant originates are presented in Table 1. In general, each ethnic group provides a test sample of 5 katuk plants, but there are also only 3, due to the limitations of the katuk plant in that ethnic group.

Optimization and performance testing

Optimization of the mobile phase using the standard Andrographolid to obtain optimum HPLC conditions was carried out starting at a wavelength of 200 nm to 500 nm. Measurements were carried out for 60 minutes using a PDA detector. Optimum injection volume was obtained at 10 μ l, with a gradient mobile phase using a combination of methanol and acetonitrile solvents, injection volume 10.0 L, with a flow rate of 1.0 mL/minute, Optimization of the mobile phase at HPLC is presented in Table 2.

Table 1. Sample origin, ethnicity, local name and number of samples

No	Province	Ethnicity	Local name	Number of samples
1.	NTT	Danggo	Kambesi	5
2.	NTB	Bajawa	Katu	5
3.	Kalimantan Barat	Mali	Cangok Manis	5
4.	Kalimantan Barat	Ngabang	Cangok Manis	5
5.	Kalimantan Barat	Sambas	Cangok Manis	5
6.	Sulawesi Tengah	Patinio	Cangok Manis	5
7.	Sulawesi Tengah	Rongkong	Katu'	5
8.	Maluku	Asilulu	Katok	3
9.	Maluku	Danar	Katuk	4
10.	Maluku	Fordata	Katok	5
11.	Papua Barat	Inawatan	Katuk	5
12.	Papua	Denta	Katuk	3
13.	Papua	Komoro	Katuk	3

Table 2. Standard andrographolid optimization and performance test using HPLC

No.	Time (second)	Acetonitril (ml)	Metanol (ml)
1	0	50	50
2	1	50	50
3	30	50	50
4	40	20	80
5	60	20	80

Performance tests using Andragrapolid external standards were carried out on every 10 test samples to ensure that the measurements were still running well while still producing the same Andrographolid standard chromatograms. The unavailability of a standard which is the active substance of this katuk plant, so the Andrographolid standard is used to ensure that the test continues properly, seen from the stability of the resulting peak and the resulting peak is not tailing.^{13,14} The HPLC chromatogram of the Andrographolid performance test results can be seen in Figure 1.

Measurement of test solution

Prior to the measurement, the eluent optimization must be carried out first to obtain the eluent composition and the time required for HPLC measurements.

Optimization results were obtained using a combination of distilled water and methanol eluent with the following variations (Table 3.). The composition of the mobile phase obtained was then used to measure the katuk leaf test solution, which amounted to 58 pieces at a wavelength of 254 nm and 366 nm. An example of the chromatogram results of one of the test solutions on HPLC measurements at 254 nm and 366 nm can be seen in Figures 2 and 3. Based on the results of the HPLC chromatogram of katuk leaves, it was seen that measurements at a wavelength of 254 nm gave relatively fewer peaks compared to measurements at a wavelength of 366 nm. This shows, measurements at 366 nm more chemical compounds were detected at that wavelength than at 254 nm.

Table 3. Results of optimization of katuk samples measurements based on mobile phase gradient

No	Time (second)	Aquades (ml)	Metanol (ml)
1.	0	80	20
2.	2	70	30
3.	10	50	50
4.	23	30	70
5.	40	0	100
6.	45	80	20
7.	60	80	20

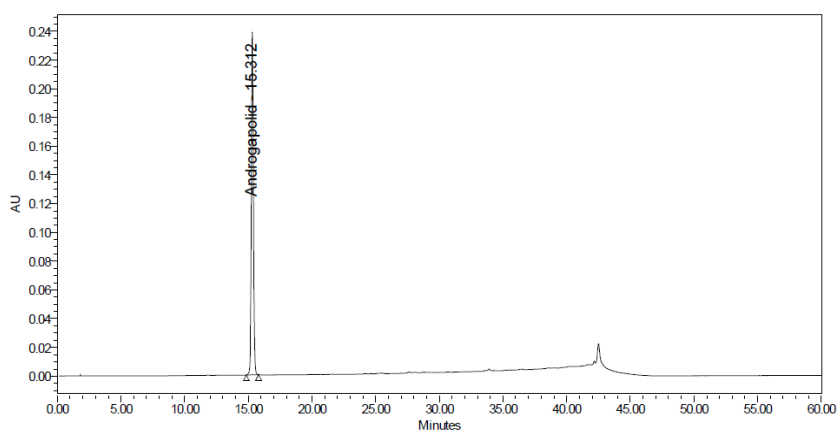


Figure 1. HPLC chromatogram on andrographolide performance test

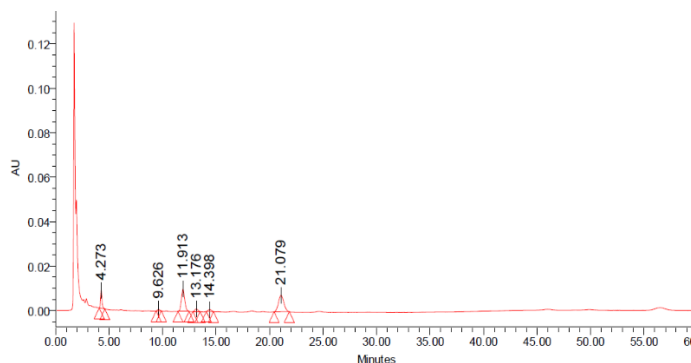
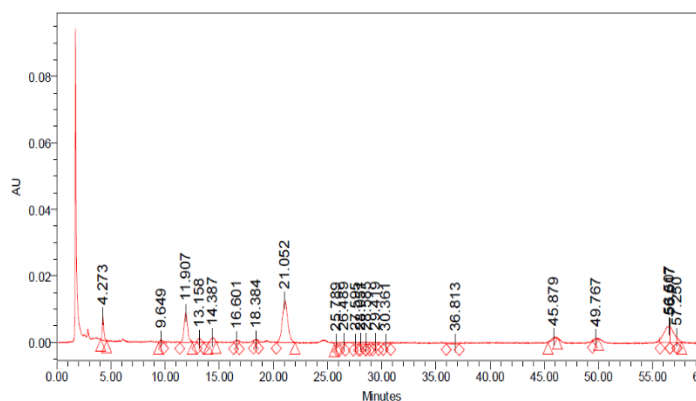


Figure 2. HPLC chromatogram katuk samples at a wavelength of 254 nm



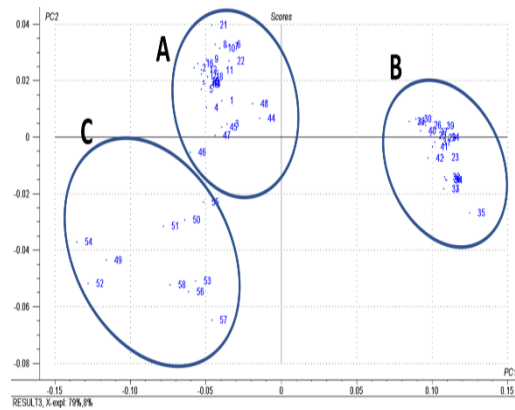


Figure 4. Clustering of katuk samples resulting from HPLC measurements at 254 nm

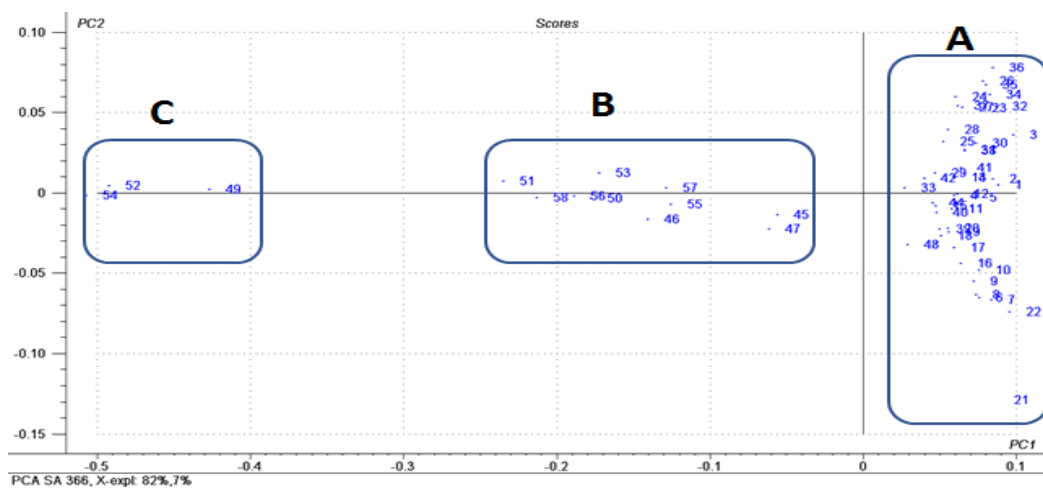


Figure 5. Clustering of katuk samples resulting from HPLC measurements at a wavelength of 366 nm

Kalimantan) which use 5 katuk samples each. For Cluster C, the katuk samples are used by the Innawatan (Pabar), Denta and Komro (Papua) ethnic groups. all three under 4 samples (Table 4).

The PCA results of katuk plants from Ristoja from various locations in 7 provinces at a measurement of 254 nm have 3 different chromatogram profile depicted in clusters A, B and C in Table 4. Elda researchers said that the differences in growing locations followed environmental differences can affect the quality of tobacco.¹⁵ It is also seen in the research here that the influence of the location where the test sample grows can provide different qualities due to different environmental conditions. PCA results from HPLC chromatograms measured at a

wavelength of 366 nm resulted in 3 clusters. Cluster A is the largest cluster with ethnic groups using katuk samples, which are 11 ethnicities. There are 7 ethnic groups (Donggo (NTT), Mali (West Kalimantan), Patinjo and Rangkong (Suteng), Asilu (Maluku) and Bajawa (NTB), each using 5 katuk samples. For Cluster B, the most ethnic groups who use katuk are 4 There are less than 5 ethnic groups using katuk, namely Fordata (Maluku), Innawatan, Dental, and Komro, all three are from Papua province, while in Cluster C there are only 2 ethnicities, namely Innawatan (Papua Barat) and Denta (Papua) with 2 and 1 katuk samples respectively (Table 4).

PCA analysis at 366 nm measurements gave 3 clusters (Table 4), each cluster has its own chemical content, where the chemical composition of each medicinal plant can be analyzed to identify medicinal plants to ensure the authenticity of the plant to prevent.^{15,16} At this wavelength of 366 nm, the katuk plant produced by Ristoja has 3 qualities where the katuk plant of the same species may have different qualities and efficacy, this is in accordance with growing conditions such as soil, cultivation and climate based on differences in geographical origin.^{17,18}

These results indicate that measurements at a wavelength of 254nm

and 366 nm produce 3 clusters each, with the most being Cluster A, 7 ethnicities were found using 28 samples (254 nm), while cluster A, identified at a wavelength of 366 nm, was found in 11 ethnicities. using 45 samples of Katuk. Cluster C is the cluster that uses the fewest ethnicities and the number of samples, each with 3 ethnicities with a number of samples below 4 samples (254 nm) and 2 ethnicities with a number of samples below 2 (366 nm).

All PCA results from katuk plants at wavelengths of 254 and 366 nm were all included in each cluster, there were no outliers, as was Ristoja's results for ciplukan plants.¹⁹

Table 4. Grouping the results of PCA analysis based on HPLC chromatogram on the use of 58 katuk samples by 13 ethnicities

Wavelength of 254 nm					
Cluster A	Number of samples	Cluster B	Number of Samples	Cluster C	Number of Samples
Donggo (NTT)	5 sample	Bajawa (NTB)	5 sample	Innawatan (Pabar)	4 sample
Mali (Kalbar)	5 sample	Ngabang (Kalbar)	5 sample	Denta (Papua)	3 sample
Patinjo (Sulteng)	5 sample	Sambas (Kalbar)	5 sample	Komro (Papua)	3 sample
Rongkong (Sulteng)	5 sample	Asilu (Maluku)	1 sample		
Asilu (Maluku)	2 sample	Danar (Maluku)	4 sample		
Fordan (Maluku)	5 sample				
Innawatan (Pabar)	1 sampel				
Wavelength of 366 nm					
Donggo (NTT)	5 sample	Fordata (Maluku)	3 sample	Innawatan (Pabar)	2 sample
Mali (Kalbar)	5 sample	Innawatan (Papua)	2 sample	Denta (Papua)	1 sample
Patinjo (Sulteng)	5 sample	Dental (Papua)	2 sample		
Rangkong (Sulteng)	5 sample	Komro (Papua)	3 sample		
Asilu (Maluku)	3 sample				
Bajawa (NTB)	5 sample				
Ngabang (NTB)	5 sample				
Sambas (Kalbar)	5 sample				
Danar (Maluku)	4 sample				
Fordatal (Maluku)	2 sample				
Innawatan (Pabar)	1 sample				

CONCLUSION

Chemometric analysis with PCA can be used to ensure plant quality based on HPLC chromatogram data, so as to ensure efficacy in accordance with the use of plants for treatment to the community. Identification of the chromatogram at a wavelength of 234 nm resulted in 3 clusters, namely Cluster A, B, and C. Cluster A was the most used cluster by 7 ethnic groups with a total of 28 Katuk samples. Similarly, the chromatogram at a wavelength of 366 nm obtained 3 clusters, with the largest cluster being Cluster A which was used by 11 ethnic groups with 45 samples of Katuk plants.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article.

ACKNOWLEDGMENT

We would like to thank the Center for Research and Development of Medicinal Plants and Traditional Medicines (B2P2TOOT), National Institute of Health Research and Development (NIHRD) for funding this research and the researchers who have contributed during the process of data gathering and composing of this article.

REFERENCE

1. Bunawan H, Bunawan SN, Baharum SN, Noor NM. *Sauropus androgynus* (L.) Merr. induced bronchiolitis obliterans: from botanical studies to toxicology. Evidence-based Complementary Alternative Medicine. 2015;2015.
2. Yustendi D, Mardhiah A. Pemberian ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dalam air minum kambing peranakan etawa untuk meningkatkan produksi dan kualitas susu. Jurnal Agripet. 2018;18(2):90–4.
3. Irwansyah AE. Efek komponen bioaktif ekstrak daun torbangun (*Coleus amboinicus* L) terhadap kadar dan ekspresi gen-gen reseptor hormon laktogenik pada tikus laktasi. Disertasi. 2018;
4. Santoso U, Fenita Y, Sulistyowati E. Effect of *Sauropus androgynus* leaf extract, fish oil and vitamin E on performance, egg quality and composition in laying hens. Jurnal Agripet. 2021;21(2):105–12.
5. Chakrabarty T, Balakrishnan NP. Nineteen new combinations and a new name in Breynia J.R. Forst. & G. Forst. (Phyllanthaceae) from Indian subcontinent. Bangladesh Journal Plant Taxonomy. 2012;19(2):119–22.
6. Ngadiarti I, Agestika L, Srimati M, Fayasari A. *Sauropus androgynus*, Papaya Leaves, and Mung Beans as mixed galactagogue drink for urban postpartum mothers. Jurnal Gizi dan Pangan. 2021;16(2):101–8.
7. Awaludin, Kartina, Maulianawati D, Manalu W, Andriyanto, Septiana R, et al. Phytochemical screening and toxicity of ethanol extract of *Sauropus androgynus*. Biodiversitas. 2020;21(7):2966–70.
8. Bernard D, Kwabena A, Osei O, Daniel G, Elom S, Sandra A. The effect of different drying methods on the phytochemicals and radical scavenging activity of Ceylon Cinnamon (*Cinnamom zeylanicum*) plant parts. European Journal of Medicinal Plants. 2014;4(11):1324–35.
9. Rababah T, Aludatt M, Alhamad M, Noor. Effects of drying process on total phenolics, antioxidant activity and flavonoid contents of common mediterranean herbs. International Journal of Agriculture and Biological Engineering. 2015;8(2):145–50.
10. Warditiani NK, Indrani A, Sari N, Swasti IAS, .Pengaruh pemberian fraksi terpenoid daun katuk (*Sauropus Androgynus* (L.) Merr) terhadap profil lipid tikus putih (*Rattus Novergicus*, L.) jantan galur wistar yang diinduksi pakan kaya lemak. Jurnal Farmasi Udayana [Internet]. 2015;4(2):66–71. Available from: <https://media.neliti.com/media/publications/279791-pengaruh-pemberian-fraksi-terpenoid-daun-890eebe3.pdf>
11. S, Rahmanisa TA. Efektivitas ekstraksi alkaloid dan sterol daun Katuk (*Sauropus*

- androgynus*) terhadap produksi ASI. Majority [Internet]. 2016;5(1):117–21. Available from: <https://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/viewFile/991/719>
12. Nuryani. Kenali mutu daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) menggunakan pengolahan citra dan teknik pengenalan pola secara kemometrik. Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. 2015.
13. Susanti S. Optimasi metode High Performance Liquid Chromatography pada penetapan kadar piperin Piper nigrum Linn. Skripsi. 2019;1–9.
14. USP. Chromatography USP 621 National Formulary. Pharmacopeial Convention Inc; 2009.
15. Nurnasari E, Djumali. Pengaruh kondisi ketinggian tempat tumbuh terhadap produksi dan mutu tembakau Temanggung. Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri. 2010;2(2):45–59.
16. Shafirany MZ, Susiilawati Y, Musfiroh I. Aplikasi kemometrik dalam penentuan mutu tumbuhan obat. Pharmauho Jurnal Farmasi Sains, dan Kesehatan. 2019;4(2):6-14.
17. Ambrożej KK, Karpinska J. The application of spectroscopic techniques in combination with chemometrics for detection adulteration of some herbs and spices. Microchemical Journal. 2020;153(104278):1–9.
18. Wang P, Yu Z. Species authentication and geographical origin discrimination of herbal medicines by near infrared spectroscopy: A review. Journal Pharmacy Analysis [Internet]. 2015;5(5):277–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.04.001>.
19. Alegantina S, Setyorini HA, Oktoberia IS, Winarsih AN. Profil *Physalis minima* L. dari berbagai etnis di 9 (sembilan) Provinsi Indonesia secara HPLC dan kemometrik. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2021;31(1):17–26.



Pengaruh Fraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus Diinduksi Parasetamol

*Effect of Tamarind Leaf Fraction (*Tamarindus indica* L.) on Liver and Kidney Function Levels of Paracetamol-Induced Rats*

Sitti Rahimah*, Akbar Awaluddin, Nurzadrina Wahyuddin

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar, Indonesia

*E-mail: st.rahimah07@gmail.com

Kata kunci:

Fraksi daun asam jawa; *Tamarindus indica* L.; AST; ALT; Kreatinin

Keywords:

Fraction of tamarind leaf; *Tamarindus indica* L.; AST; ALT; Creatinine

Received:

13-05-2022

Revised:

18-07-2022

Accepted:

20-08-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(2):155-162

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.5955>

Abstrak

Hati dan ginjal merupakan organ yang berperan dalam metabolisme dan ekskresi zat-zat yang masuk ke dalam tubuh sehingga menjadi target toksisitas dari xenobiotik dan bahan-bahan kimia lainnya termasuk obat. Antioksidan eksogen sangat diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi dan mencegah terjadinya stres oksidatif. Fraksi dari ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) memiliki aktivitas antioksidan sehingga berpotensi untuk melindungi tubuh dari radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi daun asam jawa terhadap kadar AST, ALT dan kreatinin pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan parasetamol dosis toksik. Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok I diberi induksi parasetamol (kontrol negatif), kelompok II diberi fraksi etil asetat daun asam jawa 200 mg/kgBB dan induksi parasetamol, sedangkan kelompok III diberi fraksi n-Heksan daun asam jawa 200 mg/kgBB dan induksi parasetamol, serta kelompok IV tanpa perlakuan (kontrol positif). Hasil analisis statistik dengan menggunakan uji One Way Anova dan LSD (*Post Hoc*) menunjukkan fraksi etil asetat tidak berbeda signifikan (*p-value* >0.05) dengan kelompok kontrol positif maupun dengan kelompok fraksi n-heksan, namun berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif (*p-value* <0.05). Fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun asam jawa dapat menekan peningkatan kadar AST, ALT dan kreatinin tikus yang diinduksi parasetamol.

Abstract

Liver and kidneys play a role in the metabolism and excretion of substances that enter the body, they become targets for toxicity from xenobiotics and other chemicals including drugs. Exogenous antioxidants are needed to overcome and prevent oxidative stress. Fraction of tamarind leaf extract (*Tamarindus indica* L.) has antioxidant activity, it has the potential to protect the body from free radicals. This study aimed to determine the effect of giving tamarind leaf fractions on AST, ALT and creatinine levels in rats (*Rattus norvegicus*) induced with paracetamol. Experimental animals were divided into 4 groups. Group I was given paracetamol induction (negative control), group II was given the ethyl acetate fraction and induced paracetamol, group III was given the n-hexane fraction and induced paracetamol, and group IV was without treatment (positive control). Statistical analysis using One Way Anova test and LSD (*Post Hoc*) showed that the ethyl acetate fraction was not significantly different (*p-value* >0.05) with the positive control group and the n-hexane fraction group, but significantly different from the negative control group (*p-value* <0.05). The ethyl acetate fraction and the n-hexane fraction of tamarind leaves can suppress the increase in AST, ALT and creatinine levels of rats induced by paracetamol.

PENDAHULUAN

Hati, ginjal dan jantung merupakan organ yang memegang peranan penting sebagai fungsi metabolisme, ekskresi zat-zat yang masuk ke dalam tubuh, dan pasokan darah ke seluruh tubuh. Hati terlibat dalam metabolisme makanan, obat, dan toksikan, begitu pula dengan ginjal yang berperan penting dalam mengeluarkan sisa-sisa metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh yang dibuang bersama urin, sedangkan jantung bertanggung jawab dalam memompa darah keseluruh bagian tubuh.¹ Oleh karena itu, hati, ginjal, dan jantung menjadi target toksisitas dari xenobiotik, stres oksidatif, etanol, dan bahan-bahan kimia lainnya termasuk obat.²

Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan endogen yang diproduksi tubuh seperti superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx) dan catalase (CAT). Keadaan ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel yang dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Antioksidan eksogen sangat diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi dan mencegah terjadinya stres oksidatif.³ Pemeriksaan biokimia seperti pengukuran kadar alanin aminotransferase (AST) dan aspartate aminotransferase (ALT) merupakan parameter yang umumnya digunakan dalam pemeriksaan kerusakan hati dan penyakit jantung seperti infark miokard.⁴ Sedangkan untuk mendeteksi terjadinya gangguan atau kerusakan pada ginjal, dapat dilakukan dengan melakukan analisa urin atau pemeriksaan kadar kreatinin dan ureum.⁵

Ketersediaan antioksidan di dalam tubuh harus cukup seimbang dengan radikal bebas dan kadang perlu ditingkatkan dengan bantuan sistem antioksidan eksogen.⁶ Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya. Salah satu tanaman yang banyak

hidup di Indonesia dan telah dilakukan beberapa penelitian terkait aktivitas antioksidan baik dari ekstrak maupun fraksi yaitu, asam jawa.^{7,8} Pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Fidrianny, dkk dilaporkan bahwa ekstrak etanol, n-heksan, dan etil asetat daun asam jawa memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat (nilai IC₅₀ <50 µg/mL).⁷ Fidrianny, dkk juga melaporkan bahwa ketiga jenis ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid dan fenol yang diduga memiliki potensi sebagai antioksidan. Oktavia, dkk melaporkan bahwa daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) mengandung saponin, tanin, alkaloid, vitamin C dan chlorine.⁹ Vitamin C merupakan suatu antioksidan non-enzimatis yang mempunyai sifat polaritas yang tinggi karena banyak mengandung gugus hidroksil. Vitamin C memiliki kemampuan untuk melawan dan menetralkan radikal bebas dari segi kerusakan DNA.¹⁰ Saponin mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediat hidroperoksida sehingga mencegah kerusakan biomolekular oleh radikal bebas.¹¹ Senyawa fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol, yaitu gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas.¹² Flavanoid yang merupakan senyawa polifenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas, maka aktivitas antioksidan senyawa polifenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai yang terjadi.¹³

Parasetamol merupakan obat analgesik-antipiretik dengan sedikit efek antiinflamasi yang digunakan secara luas di kalangan masyarakat. Parasetamol dosis analgesik dinilai efektif dalam menangani nyeri akut paska operasi derajat ringan sampai sedang.¹⁴ Pada pemakaian lama dengan dosis besar, yaitu 6-12 gram dapat menyebabkan kerusakan hati

(hepatotoxicity) dengan ensefalopati,¹⁵ dan kerusakan hati ini akan diiringi kerusakan organ lain, salah satunya adalah ginjal berupa nekrosis tubulus akut.¹⁶ Mekanisme kerusakan oleh parasetamol terjadi akibat konversi parasetamol menjadi metabolik reaktif, yaitu N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) oleh enzim sitokrom dan menjadi radikal bebas yang dapat mengganggu integritas sel.¹⁷ Beberapa penelitian terdahulu telah dilakukan terkait aktifitas dari ekstrak daun asam jawa terhadap fungsi hati dan ginjal.^{18,19,20} Meena, dkk melaporkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa dosis 200 mg/kgBB memiliki aktivitas hepatoproteksi pada tikus.²⁰ Penelitian ini menggunakan dosis berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan hasil fraksinasi dari ekstrak daun asam jawa menggunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda. Penggunaan fraksi sebagai bahan baku obat memiliki beberapa keuntungan di antaranya memiliki kandungan zat aktif yang lebih tinggi dibandingkan simplisia kering dan ekstrak. Komponen kandungan senyawa dalam fraksi lebih sedikit sehingga memungkinkan untuk menyederhanakan jumlah obat yang dikonsumsi dan meminimalkan efek samping yang mungkin terjadi.²¹ Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh fraksi ekstrak daun asam jawa terhadap fungsi hati dan ginjal tikus dengan parameter AST, ALT, dan kreatinin yang diinduksi dengan parasetamol dosis toksik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah data ilmiah terkait pemanfaatan daun asam jawa sebagai antiosidan eksogen.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian berupa alat Humalyzer junior, gelas kimia (Pyrex®), pipa kapiler, timbangan analitik (Mettler Toledo®), sentrifuge (Phoenix®), corong pisah (Pyrex®), spuit oral (Kanula®), tabung evendroff (Stardec®), waterbath, rotary vacuum vaporator (Buchi

R-200®), dan vacuum tube. Bahan yang digunakan adalah aquadest, asam asetat glasial (Merck®), n-heksan (Merck®), etil asetat (Merck®), asam sulfat pekat (Merck®), daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dipetik dari Kab. Maros Sulawesi Selatan, etanol 96% (OneMed), Na. CMC (Merck®), NaOH (Merck®), asam pikrat (Merck®), kit reagen alanin aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), dan kreatinin.

Ekstraksi

Daun asam jawa sebanyak 1 kg disortasi basah terlebih dahulu dengan tujuan menghilangkan kotoran-kotoran yang terdapat pada daun, selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir, kemudian dirajang dan dikeringkan dengan parameter daun hancur ketika diremas, dan dilakukan sortasi kering untuk memisahkan sisa-sisa kotoran. Simplisia daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) sebanyak 500 gram diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96% (1:10) sambil sesekali diaduk. Proses ekstraksi dilakukan secara berulang dengan menggunakan cairan penyari yang baru hingga filtrat yang diperoleh tampak bening. Filtrat dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 59°C derajat untuk fraksi n-heksan) dan 67°C untuk fraksi etil asetat hingga diperoleh ekstrak kental dan dilakukan uji bebas etanol dengan metode esterifikasi.²²

Fraksinasi

Fraksi daun asam jawa dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Ekstrak etanol daun asam jawa dilarutkan dengan air suling, dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan n-heksan, lalu dikocok, kemudian didiamkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas (n-heksan) dan lapisan bawah (air). Kedua lapisan dipisahkan, diambil fraksi n-heksan dan disisihkan. Fraksi air difraksinasi kembali dengan n-heksan hingga diperoleh fraksi n-heksan yang tampak jernih. Selanjutnya fraksi air

difraksinasi lagi dengan etil asetat lalu dikocok dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan yang terpisah. Kemudian fraksinasi dilakukan sampai warna lapisan etil asetat jernih. Fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan *waterbath* hingga konsistensi pelarut dalam fraksi berkurang.²³

Pembuatan larutan koloidal Na-CMC 0,5% b/v

Na-CMC ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditaburkan di atas air panas lalu digerus hingga terbentuk mucilago. Larutan koloidal Na-CMC yang telah jadi dipindahkan ke dalam botol yang telah dikalibrasi dan ditambahkan aquadest hingga volumenya 100 mL.²⁴

Pembuatan sampel uji fraksi ekstrak daun asam jawa 200 mg/kgBB

Pembuatan sampel uji fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dari ekstrak etanol daun asam jawa dilakukan dengan menimbang fraksi sebanyak 1600 mg lalu dicampur dengan larutan koloidal Na.CMC 0,5 % hingga 100 ml sebagai sediaan stok dengan volume pemberian 2,5 ml/200 g BB tikus.²⁴

Pembuatan sediaan uji paracetamol

Dosis toksik parasetamol 2,5 g/kg BB²⁵ dibuat dengan menimbang serbuk dari tablet paracetamol setara dengan 5 g, kemudian dicampur dengan larutan koloidal Na. CMC 0,5 % dan dicukupkan volumenya hingga diperoleh volume akhir 25 mL sediaan dengan volume pemberian 2,5 ml/200 g BB tikus.²⁴

Penyiapan dan perlakuan terhadap hewan uji

Tikus jantan sebagai hewan uji diadaptasi selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan dan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Hewan uji puasa selama 8 jam kemudian diukur kadar AST, ALT, dan kreatinin sebagai kadar awal sebelum perlakuan. Selanjutnya, kelompok 1 diberikan suspensi paracetamol 2,5 g/kg BB tikus. Kelompok 2 dilakukan pemberian paracetamol 2,5 g/kgBB dan

fraksi n-heksan 200 mg/kg BB tikus. Kelompok 3 dilakukan pemberian paracetamol 2,5 g/kgBB dan fraksi etil asetat 200 mg/kg BB tikus. Pada kelompok 4, hewan uji tidak diberikan perlakuan sebagai kontrol normal. Masing-masing pemberian sediaan uji sebanyak 2,5 mL/200 g BB tikus selama 7 hari. Pada hari ke-8, dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar AST, ALT, dan kreatinin akhir setelah perlakuan.²⁶

Analisis data

Data dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan program SPSS versi 25. Data yang diperoleh dilakukan tes normalitas menggunakan *Sapiro-Wilk* dan dilanjutkan dengan uji homogenitas. Uji One Way Anova dilakukan untuk melihat ada atau tidak ada perbedaan tiap kelompok. Uji Post Hoc LSD untuk menentukan kelompok yang berbeda secara signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel daun asam jawa yang selanjutnya diolah menjadi simplisia diekstraksi terlebih dahulu dengan etanol 96% sebelum dilakukan fraksinasi. Dari hasil pengolahan sampel tersebut diperoleh ekstrak sebanyak 130 gram dari 600 gram simplisia sehingga didapatkan rendemen sebanyak 21,7%. Pada penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Kartikawati dan Deswati²⁷ dan oleh Rahimah²⁸ dengan menggunakan pelarut etanol 70% diperoleh persen rendemen masing-masing sebesar 15,29% dan 14,44%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan etanol 96% menghasilkan rendemen yang lebih besar dibandingkan jika menggunakan etanol 70%. Selanjutnya dari hasil fraksinasi diperoleh 14,7 gram fraksi n-heksan dan 13,5 gram fraksi etil asetat dengan persen rendemen masing-masing yaitu 10,77% dan 10,38%.

Pengujian aktivitas hepatoproteksi dan nefroproteksi fraksi daun asam jawa dilakukan dengan menggunakan

paracetamol dosis toksik sebagai sumber radikal bebas. Parasetamol (asetaminofen) merupakan obat yang paling umum digunakan dalam penanganan demam dan nyeri ringan sampai sedang. Penggunaan paracetamol relative aman digunakan pada dosis terapi, akan tetapi penggunaan dalam dosis yang terlalu tinggi (over dosis) memiliki potensi terjadinya nekrosis hati. Dan kerusakan hati ini akan diiringi kerusakan organ lain, salah satunya adalah ginjal berupa nekrosis tubulus akut.¹⁶ Overdosis paracetamol akan menyebabkan penurunan glutathione-SH (GSH) pada sel hati sehingga rentan terhadap cedera oleh zat oksidan, selain itu memungkinkan n-asetil-p-benzokuinon (NAPQI) dari metabolit paracetamol berikatan secara kovalen pada makromolekul sel sehingga menyebabkan kekacauan pada berbagai sistem enzim.²⁹

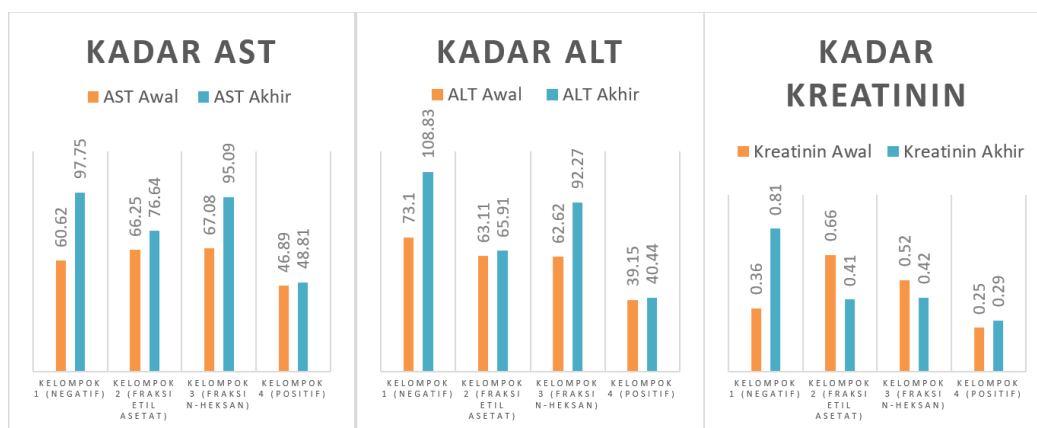
Nilai klinik suatu pemeriksaan laboratorium tergantung pada sensitivitas, spesifik, dan akurasi. AST (Aspartate aminotransferase) merupakan parameter yang memiliki sensitivitas maksimum 90%. AST merupakan enzim yang terdapat di berbagai jaringan, terutama hati, otot lurik dan otot jantung. Peningkatan aktivitas AST dapat menjadi penanda yang baik adanya kerusakan jaringan lunak.³⁰ Distribusi enzim AST relatif lebih luas pada jantung dibandingkan dengan ALT yang spesifik untuk melihat kerusakan hati. AST pada jantung digunakan sebagai parameter untuk diagnose penyakit infark miokard, akan tetapi peningkatan AST tidak dapat

dijadikan parameter utama karena AST juga dapat meningkat pada kondisi lain yang perlu dipertimbangkan.⁴

Peningkatan kadar kreatinin menggambarkan adanya gangguan pada fungsi ginjal, terutama pada aktivitas glomerulus. Pengukuran kadar kreatinin bermanfaat untuk melihat fungsi ginjal yang terganggu. Dibandingkan dengan pemeriksaan asam urat dan ureum, pemeriksaan kreatinin lebih lazim digunakan sebagai indikator fungsi ginjal karena sekresi kreatinin tidak dipengaruhi oleh diet, sex dan hormone.³¹

Hasil pengujian aktivitas fraksi ekstrak daun asam jawa pada tikus yang diinduksi paracetamol diperoleh data kadar AST, ALT, dan kreatinin tikus yang digambarkan pada Gambar 1.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian paracetamol sebagai penginduksi menyebabkan terjadinya peningkatan kadar AST, ALT dan kreatinin serum pada tikus putih. Hal ini terlihat jelas pada perlakuan ketiga kelompok yaitu kelompok 1, kelompok 2, dan kelompok 3. Pada kelompok 1 (kontrol negatif) yang hanya memperoleh perlakuan induksi paracetamol tanpa ekstrak dan kelompok 3 dengan pemberian fraksi n-heksan dan induksi paracetamol terjadi peningkatan kadar AST dan ALT yang cukup tinggi setelah hari ke-14, namun tidak demikian pada hasil pengukuran kadar kreatinin tikus, peningkatan yang cukup tinggi hanya terjadi pada kelompok 1.



Gambar 1. Hasil pengukuran kadar AST (μL/L), ALT (μL/L), dan kreatinin (mg/dL) tikus

Pada kelompok 2 dengan pemberian fraksi etil asetat ekstrak daun asam jawa, hasil pengukuran sebelum dan setelah pemberian fraksi dan paracetamol juga mengalami peningkatan, namun perubahan yang terjadi lebih rendah dibandingkan dengan kelompok 2 (kontrol negatif). Sedangkan, pada kelompok 4 (kontrol positif), kadar AST, ALT dan kreatinin tikus tidak mengalami peningkatan yang signifikan antara pengukuran awal dengan pengukuran setelah 14 hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian fraksi etil asetat ekstrak daun asam jawa memiliki kemampuan dalam menekan terjadinya peningkatan AST, ALT dan kreatinin pada tikus yang diinduksi paracetamol dosis toksik sebagai sumber oksidan.

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Pimple dengan melakukan pengujian terhadap ekstrak air daun asam jawa (350 mg/kgBB) juga memperlihatkan efek hepatoproteksi terhadap organ hati yang diinduksi paracetamol.¹⁹ Penelitian yang dilakukan oleh Liman, dkk dengan menggunakan ekstrak metanol dari berbagai bagian tanaman asamjawa disimpulkan memiliki aktifitas hepatoproteksi dan nefroproteksi terhadap hewan uji tikus yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).¹⁸ Penelitian dari Meena, dkk juga dilaporkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa dosis 200 mg/kgBB memiliki aktivitas hepatoproteksi pada tikus yang diinduksi INH dan rifampisin.²⁰

Peredaman aktivitas radikal bebas yang masuk kedalam tubuh dalam jumlah berlebih dapat dilakukan dengan pemberian antioksidan. Hasil identifikasi kandungan kimia dari daun asam jawa yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya melaporkan bahwa Fenol, flavonoid, saponin dan vitamin C merupakan senyawa kimia dari daun asam jawa yang diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan.^{7,9} Vitamin C merupakan suatu antioksidan non-enzimatis yang memiliki kemampuan untuk melawan dan menetralkan radikal bebas dari segi kerusakan DNA.¹⁰ Saponin mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hidroperoksida

sehingga mencegah kerusakan biomolekular oleh radikal bebas.¹¹ Senyawa fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol seperti flavonoid, yaitu gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas, maka aktivitas antioksidan senyawa fenol dapat dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai yang terjadi.¹³

Beberapa penelitian terkait aktivitas antioksidan dari daun asam jawa juga telah dilakukan oleh peneliti-peneliti sebelumnya, seperti hasil penelitian dari Akmarina, dkk diperoleh aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun asam jawa dengan nilai IC₅₀ 27.11 µg/mL termasuk dalam kategori sangat kuat (nilai IC₅₀ <50 µg/mL).³² Begitupula dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Irdi Fidrianny yang menggunakan beberapa jenis ekstrak dengan kepolaran yang berbeda yaitu ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol masing masing diperoleh nilai IC₅₀ 3,66 µg/mL, 2,11 µg/mL, dan 2,05 µg/mL.⁷ Aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat daun asam jawa juga telah dilakukan oleh Megawati dan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 20,05 µg/mL.⁸ Namun Dalam penelitian ini potensi yang dihasilkan oleh fraksi daun asam jawa masih belum maksimal yang kemungkinan disebabkan oleh dosis pemberian yang masih kurang sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Hasil analisis statistik menggunakan uji oneway anova dengan uji LSD (post hoc) menunjukkan bahwa pemberian fraksi etil asetat daun asam jawa 200 mg/kgBB (kelompok 2) tidak berbeda signifikan (p-value >0.05) dengan kelompok 4 kontrol positif (tanpa induksi) maupun dengan kelompok fraksi n-heksan daun asam jawa, tetapi berbeda signifikan (p-value <0.05) dengan kelompok 1 kontrol negatif (induksi paracetamol). Selanjutnya kelompok fraksi n-heksan berbeda signifikan (p-value <0.05) dengan kelompok 4 kontrol positif (tanpa perlakuan/induksi) dan kelompok 1

kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas yang lebih baik dari pada fraksi n-heksan dalam melindungi fungsi hati dan ginjal terhadap parameter kadar AST, ALT dan kreatinin.

KESIMPULAN

Pemberian fraksi etil asetat daun asam jawa memiliki pengaruh dalam menghambat peningkatan kadar AST, ALT dan kreatinin tikus yang diinduksi paracetamol dosis toksik. Sedangkan, pemberian fraksi n-heksan dapat menghambat peningkatan kadar kreatinin tikus namun tidak menekan peningkatan kadar AST dan ALT tikus yang diinduksi paracetamol sebagai sumber oksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pelaksanaan penelitian tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak, karenanya penulis mengucapkan banyak terima kasih khususnya kepada Yayasan Al-marisah Madani yang telah memfasilitasi kami peneliti dalam melaksanakan penelitian, serta ucapan terima kasih kepada tim Laboratorium Biologi dan Laboratorium Farmakologi STIFA Makassar serta Laboratorium Kimia Universitas Hasanuddin yang telah membantu dalam pelaksanaan dan pengerjaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wijayanti N. Fisiologi manusia dan metabolisme zat gizi. Malang: Universitas Brawijaya Press; 2017.
2. Lu FC. Toksikologi dasar: asas, organ sasaran, dan penilaian resiko. Edisi II. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 1995.
3. Werdhasari A. Peran antioksidan bagi kesehatan. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia. 2014;3(2):59–68.
4. Qodriyati NLY, Sulistyani E, Yuwono B. Kadar serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar stresor rasa sakit electrical foot shock selama 28 hari. Pustaka Kesehatan. 2016;4(1):73–7.

5. Kertia N. Effect of the combination of curcuminoid and essential oil on the serum ureum and creatinine level of patients with osteoarthritis. Indonesian Journal of Pharmacy. 2011;22(3):151–7.
6. Awuy FD, Purwanto DS, Mewo YM. Pengaruh pemberian vitamin C terhadap kualitas spermatozoa yang terpapar asap rokok. eBiomedik. 2021;9(2):240–7.
7. Fidrianny I, Zahidah ES, Hartati R. Senyawa antioksidan dari ekstrak n heksana daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dari Banyuwangi, Garut–Indonesia. Acta Pharmaceutica Indonesia. 2014;39(3&4):45–50.
8. Megawasti M, Syarif S, Aminah A. Uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dengan metode DPPH (1, 1 Diphenyl-2-Picrylhydrazil). Wal'afiat Hospital Journal. 2021;95–102.
9. Nwodo UU, Obiyeke GE, Chigor VN, Okoh AI. Assessment of *Tamarindus indica* extracts for antibacterial activity. International Journal of Molecular Sciences. 2011;12(10):6385–96.
10. Putri AP. Efek vitamin C terhadap kualitas spermatozoa yang diberi paparan asap rokok. Jurnal Majority. 2015;4(1):1–4.
11. Ahmad AR, Mun'im A, Elya B. Study of antioxidant activity with reduction of DPPH radical and xanthine oxidase inhibitor of the extract of *Ruellia tuberosa* Linn. leaf. International Research Journal of Pharmacy. 2012;3(11):66–70
12. Dhurhanian CE, Novianto A. Uji kandungan fenolik total dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan dari berbagai bentuk sediaan sarang semut (*Myrmecodia pendens*). Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2018;5(2):62–8.
13. Yuhernita., Juniarti. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. Makara Journal of Science. 2011;15(1):48–52
14. Graham GG, Davies MJ, Day RO, Mohamudally A, Scott KF. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. Inflammopharmacology. 2013;21(3):201–32.
15. Oktavia S, Ifora I, Suhatri S, Marni M. Uji aktivitas hepatoprotektor ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap

- kerusakan hati yang diinduksi parasetamol. Jurnal Farmasi Higea. 2017;9(2):109–17.
16. Rini AS, Hairrudin H, Sugiyanta S. Efektivitas ekstrak putri malu (*Mimosa pudica* Linn.) sebagai nefroprotektor pada tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Pustaka Kesehatan. 2013;1(1):15–9.
 17. Ikawati Z. Cerdas mengenali obat. Yogyakarta: Kanisius; 2010.
 18. Liman ML, Atawodi SE. Hepatoprotective and nephroprotective effects of methanolic extract of different parts of *Tamarindus indica* Linn in rats following acute and chronic carbon tetrachloride intoxication. Annual Research & Review in Biology. 2015;109–23.
 19. Pimple BP, Kadam P V, Badgujar NS, Bafna AR, Patil MJ. Protective effect of *Tamarindus indica* Linn. against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2007;69(6):827–31.
 20. Meena SZ, Rahman MA, Bagga P, Mujahid M. Hepatoprotective activity of *Tamarindus indica* Linn. stem bark ethanolic extract against hepatic damage induced by co-administration of antitubercular drugs isoniazid and rifampicin in Sprague Dawley rats. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology. 2019;30(1):131–7.
 21. Nurhaliza S. Keunggulan fraksi sebagai bahan baku obat tradisional dan suplemen [Internet]. Kantor Berita Indonesia; 2021 Sept 15 [disitasi 2022 Agu 12]. Diunduh dari: <https://www.antaranews.com/berita/2393893/keunggulan-fraksisebagai-bahan-baku-obat-tradisional-dan-suplemen>.
 22. Mun'im A, Hanani E, Rahmadiyah R. Karakterisasi ekstrak etanolik daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Majalah Ilmu Kefarmasian. 2009;6(1):5.
 23. Rahmadani D, Nasution HM. Potensi antioksidan fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana ekstrak etanol kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) terhadap penangkapan radikal bebas. Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan. 2021;1(1):28–37.
 24. Rahimah S, Salampe M, Rahmania N. Uji toksisitas teratogenik ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* Linn.) terhadap tikus (*Rattus norvegicus*). Jurnal Ilmiah As-Syifaa. 2020;12(1):29–35.
 25. Zaher AA, Hady AR, Mahmoud MM, Farrag MMY. The potential protective role of alpha-lipoic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. Toxicology. 2008;243(3):261–70.
 26. Kurniadi E, Rousdy DW, Yanti AH. Aktivitas nefroprotektif ekstrak metanol buah lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) terhadap induksi parasetamol. Jurnal Labora Medika. 2018;2(1):14–21.
 27. Kartikawati E, Deswati DA. Uji efek analgetik ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) pada mencit putih jantan galur swiss webster. Jurnal Sabdariffarma. 2020;2(1).
 28. Rahimah S, Dzulkifli, Suwahyuni, Aksa R, Salamape M, Awaluddin A. Uji toksisitas subakut ekstrak etanol daun asam jawa dosis efektif sebagai antihiperqlikemia terhadap kadar AST, ALT, dan kreatinin tikus (*Rattus norvegicus*). Jurnal Farmasi Indonesia [Internet]. 2021;18(1):25–31. Diunduh dari: <http://ejurnal.setiabudi.ac.id/ojs/index.php/farmasi-indonesia/issue/view/98>.
 29. Goodman G, Gilman A, Limbird LE. Dasar farmakologi terapi. Jakarta: EGC. 2008.
 30. Choliq C, Irfan IZ. Aktivitas aspartate aminotransferase (AST) dan gamma glutamyltransferase (GGT) pada sapi pejantan unggul. Konferensi Ilmiah Veteriner Nasinal ke-13; 2014 Nov 23-26; Palembang, Indonesia. Bogor: Institute Pertanian Bogor Scientific Repository; 2014
 31. Hendarta NY, Martono B. Perbedaan kadar kreatinin pada plasma lithium heparin dengan penggunaan plasma separator tube dan vacutainer pada pasien post hemodialisa di RSUD Sleman Yogyakarta [Thesis]. Yogyakarta: Poltekkes Kemenkes Yogyakarta; 2018.
 32. Akmarina I, Slamet, Rahmatullah ST. Uji perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daging buah, biji buah, dan daun asam jawa (*Tamarindus indica* Linn.) dengan metode DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). Pekalongan: Stikes Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan Repository; 2018.



Pengembangan Nutrasetikal Es Krim Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

*Development of Nutraceutical Ice Creams Using Moringa Leaf (*Moringa oleifera* L.)*

Takdir Ul Haq

Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Makassar, Makassar, Indonesia

*E-mail: takdirulhaq776@gmail.com

Abstrak

Tumbuhan kelor mulai dari buah, bunga, daun, kulit, biji, batang sampai akar memiliki manfaat yang penting. Salah satu kandungan yang paling menonjol dari kelor adalah antioksidan, terutama pada bagian daunnya mengandung antioksidan yang tinggi. Daun kelor mengandung antioksidan yang berupa antarquinon, flavonoid, tanin, steroid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Daun kelor juga mengandung vitamin C, kalsium, vitamin B, zat besi, vitamin A, kalium dan protein dengan jumlah besar yang mudah dicerna dan diserap tubuh. Pemanfaatan tanaman kelor di Indonesia saat ini masih terbatas. Salah satu upaya meningkatkan pemanfaatan daun kelor yaitu melalui pengembangan produk nutrasetikal es krim daun kelor. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formulasi sediaan nutrasetikal es krim daun kelor aktivitas antioksidannya. Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan melakukan percobaan membuat serbuk daun kelor dengan metode pengeringan pada suhu ruang dan digunakan sebagai bahan tambahan dalam produk es krim serta diukur potensi antioksidannya. Penelitian ini menunjukkan serbuk daun kelor dapat diformulasi menjadi sediaan nutrasetikal es krim, aktivitas antioksidan serbuk daun kelor 50 mg dan es krim 5% tergolong lemah, serbuk Daun Kelor 100 mg dan 150 mg serta es krim 10% dan 15% tergolong sedang dan aktivitas antioksidan serbuk daun kelor tidak mengalami perubahan setelah diformulasi menjadi sediaan nutrasetikal es krim daun kelor.

Abstract

Moringa plants ranging from fruit, flowers, leaves, skin, seeds, stems to roots have important benefits. One of the most prominent content of moringa is antioxidants, especially in the leaves which contain high antioxidants. Moringa leaves contain antioxidants in the form of interquinones, flavonoids, tannins, steroids, alkaloids, triterpenoids, and saponins. Moringa leaves also contain vitamin C, calcium, B vitamins, iron, vitamin A, potassium and large amounts of protein that are easily digested and absorbed by the body. The use of moringa plants in Indonesia is currently still limited. One of the efforts to increase the utilization of moringa leaves is through the development of nutraceutical products of Moringa Leaf ice cream. This study aims to obtain a nutraceutical formulation of moringa leaf ice cream for and antioxidant activity. This research is an experimental study by conducting experiments to make Moringa Leaf powder by drying at room temperature and used as an additive in ice cream products and measuring antioxidant activity. This study shows that moringa leaf powder can be formulated into nutraceutical ice cream preparations, the antioxidant activity of moringa leaf powder 50 mg and 5% ice cream is classified as weak, moringa leaf powder 100 mg and 150 mg and 10% and 15% ice cream is classified as moderate and the antioxidant activity is moderate. Moringa leaf powder did not change after being formulated into a nutraceutical preparation of moringa leaf ice cream.

Kata kunci:

Nutrasetikal; Es krim; Daun kelor; Antioksidan

Keywords:

Nutraceutical; Ice cream; Moringa leaf; Antioxidant

Received:

10-06-2022

Revised:

28-07-2022

Accepted:

24-08-2022

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2022;12(2):163-169

DOI:

<https://doi.org/10.22435/jki.v12i2.163-169>

PENDAHULUAN

Makanan fungsional yaitu makanan yang menyediakan tubuh karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dll dalam jumlah yang dibutuhkan untuk hidup sehat. Saat makanan fungsional dapat berkontribusi dalam mencegah dan atau mengobati gangguan kesehatan (kecuali anemia) dan atau suatu penyakit, disebut sebagai nutrasetikal.¹ Salah satu bahan pangan yang berpotensi untuk dikembangkan yaitu tumbuhan kelor (*Moringa oleifera*). Kelor adalah tumbuhan tropis yang tumbuh dan berkembang di Indonesia.² Umumnya masyarakat memanfaatkan daun kelor sebagai bahan menu sayuran.³

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun kelor mengandung vitamin C, kalsium, vitamin B, zat besi, vitamin A, kalium dan protein dengan jumlah besar yang mudah dicerna dan diserap oleh tubuh.⁴ Salah satu kandungan yang paling menonjol dari kelor adalah antioksidan, terutama pada bagian daunnya mengandung antioksidan yang tinggi. Berdasarkan uji fitokimia, daun kelor mengandung antioksidan yang berupa antarquinon, flavonoid, tanin, steroid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin.⁵ Salah satu senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun kelor dan mempunyai aktivitas antioksidan 5 kali lebih kuat dari vitamin C dan vitamin E adalah kuersetin.⁶ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Djamil diperoleh aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak Daun kelor dengan nilai IC₅₀ sebesar 106,7484 pada suhu perebusan 40 °C.⁷

Antioksidan merupakan senyawa yang terbukti dapat menghambat proses oksidasi dengan cara meredam aktivitas radikal bebas. Tubuh sendiri memiliki pertahanan antioksidan yang berupa enzim dan berfungsi untuk menghambat radikal bebas. Namun karena perkembangan industri yang sangat pesat, dimana sumber ion radikal umumnya bersumber dari lingkungan atau kegiatan fisik yang tinggi sehingga tidak dapat dihambat oleh antioksidan dalam tubuh. Sehingga tubuh membutuhkan sumber antioksidan lain

seperti antioksidan alami serta antioksidan sintesis jika terpapar radikal bebas secara berlebih.⁸

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan pada kulit terluarnya, sehingga memiliki sifat yang sangat reaktif untuk mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang ada di sekitarnya (misalnya protein, karbohidrat, lipid, dan DNA) dan bersifat racun bagi sel tubuh. Jika molekul normal berikatan dengan radikal bebas, maka akan terbentuk radikal bebas baru. Radikal bebas merupakan pemicu penuaan pada manusia, kanker, stroke, penyakit jantung koroner, aterosklerosis dan gagal ginjal.⁹

Saat ini pemanfaatan tumbuhan kelor di Indonesia masih terbatas. Umumnya masyarakat memanfaatkan Daun kelor sebagai bahan menu sayuran. Salah satu upaya meningkatkan pemanfaatan daun kelor adalah melalui pengembangan produk nutrasetikal es krim daun kelor. Penelitian yang dilakukan oleh Iskandar diperoleh bahwa penambahan 25 gram tepung daun kelor pada es krim dapat diterima dari segi rasa, aroma dan tekstur oleh responden.¹⁰

Nutrasetikal merupakan pangan fungsional modifikasi dimana bahan merusaknya telah dihilangkan, dikurangi, atau diganti dengan bahan lain yang memiliki efek menguntungkan, seperti pengurangan lemak es krim dengan penambahan serat pangan.¹ Es krim yaitu produk olahan makanan beku yang diproduksi dari proses emulsifikasi susu, produk susu ataupun campurannya dengan atau tanpa menggunakan bahan makanan lain yang diizinkan, dipanaskan dengan metode pasteurisasi, dengan atau tanpa penambahan udara.¹¹

Es krim sendiri merupakan olahan makanan beku yang disukai banyak kalangan masyarakat, mulai dari anak-anak, remaja, dewasa sampai orang tua karena memiliki rasa yang enak, manis, dan lembut serta penyajian yang bervariasi.¹³ Es krim banyak dikembangkan dari bahan alternatif dan

memiliki kandungan gizi yang tinggi sehingga disukai banyak orang.¹²

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan melakukan percobaan dengan memanfaatkan serbuk daun kelor sebagai bahan tambahan dalam pembuatan produk es krim dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Farmasi Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Makassar pada bulan Februari hingga April 2022.

Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan yaitu Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu), freezer, timbangan analitik (Sartorius), mixer, dan blender.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang berasal dari Kabupaten Kepulauan Selayar, susu skim (Indomilk), krimmer (MaxCreamer), kuning telur, gula pasir (Rose Brand), etanol 96%, aquadest, dan DPPH.

Tabel 1. Rancangan formula sediaan es krim daun kelor (*Moringa oleifera* L.)

Komposisi Bahan (%)	FI	FII	FIII	FIV
Daun kelor	0	25	30	35
Krimmer	10	10	10	10
Gula	12	12	12	12
Kuning telur	0,2	0,2	0,2	0,2
Susu skim	ad 100	ad 100	ad 100	ad100

Prosedur kerja

Pembuatan serbuk daun kelor

Daun kelor yang digunakan merupakan daun kelor yang masih muda dan berwarna hijau, daun kelor dipisahkan dari tangkai daunnya dan dicuci dengan air bersih. Proses pengeringan dilakukan dengan cara dianginkan pada suhu ruang selama 2x24

jam pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung. Daun yang sudah kering dihancurkan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Serbuk yang terbentuk diayak dengan ayakan No. 100 dan disimpan dalam wadah kedap udara.

Pembuatan es krim Daun kelor

Kuning telur dikocok menggunakan mixer sampai tercampur rata atau homogen, kemudian dimasukkan bersama krimmer dan gula pasir ke dalam susu, lalu dihomogenkan menggunakan mixer dan dihindarkan terbentuknya endapan selama 15 menit. Serbuk daun kelor ditambahkan ke dalam adonan sesuai perlakuan. Setelah itu dilakukan proses *aging* selama 3 - 4 jam pada suhu 4 °C. Es krim dikemas ke dalam pot plastik dan dimasukkan ke dalam freezer selama 24 jam.

Uji fisik

a. Bau

Sampel uji diambil dan dimasukkan ke dalam gelas arloji, sampel uji dicium untuk mengetahui baunya. Jika tidak tercium bau asing, *off-flavour* atau bau tengik, maka disimpulkan “normal”, jika tercium bau asing, *off-flavour* atau bau tengik, maka dapat disimpulkan “tidak normal”.

b. Rasa

Sampel uji diambil dan dicicipi dengan lidah. Jika tidak terdapat rasa asing, disimpulkan “normal”, jika terdapat rasa asing, maka dapat disimpulkan “tidak normal”.¹¹

Uji aktivitas antioksidan daun kelor

Sebanyak 20 mg DPPH ditimbang, dilarutkan dengan etanol 96% dan dimasukkan ke dalam wadah labu ukur 250 mL, kemudian dicukupkan volume sampai tanda menggunakan etanol 96%. Larutan DPPH dilapisi dengan kertas aluminium.

Serbuk daun kelor ditimbang masing-masing 50 mg, 100 mg, dan 150 mg, dilarutkan dengan etanol 96% dan dimasukkan ke dalam wadah labu ukur 50 mL, kemudian volume ditambahkan sampai tanda dengan menggunakan etanol

96% dan didiamkan selama 30 menit sambil sekali-kali dihomogenkan. Larutan sampel disaring dan dipipet sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 4 ml. Vial dibungkus menggunakan aluminium foil dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Larutan blanko dibuat dengan cara dipipet etanol 96% sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam vial dan ditambah dengan larutan DPPH sebanyak 4 ml. Vial dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.

Serapan larutan sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Kemudian dihitung % inhibisinya dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

Uji aktivitas antioksidan es krim daun kelor

Es krim daun kelor ditimbang masing-masing konsentrasi sebanyak 1000 mg, dilarutkan dengan etanol 96% dan dimasukkan ke dalam wadah labu ukur 50 ml, kemudian volume dicukupkan sampai tanda menggunakan etanol 96% dan didiamkan selama 30 menit sambil sekali-kali dihomogenkan. Larutan sampel disaring dan dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 4 mL. Vial dibungkus menggunakan aluminium foil dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.

Serapan larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm. Persen inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produk sediaan nutrasetikal es krim daun kelor pada penelitian ini dibuat dengan menggunakan serbuk daun kelor

dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, dan 15%. Penambahan serbuk daun kelor ke dalam es krim akan mempengaruhi organoleptik yang dihasilkan seperti rasa, bau dan warna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya perbedaan pada rasa, bau dan warna antara sediaan es krim tanpa serbuk daun kelor dengan sediaan es krim daun kelor. Perbedaan intensitas warna, bau dan rasa terjadi akibat perbedaan konsentrasi serbuk daun kelor pada es krim.

Formulasi sediaan es krim daun kelor terbentuk warna hijau hingga hijau kecoklatan. Daun kelor berwarna hijau muda sampai hijau tua, sehingga warna es krim akan menjadi semakin gelap dengan meningkatnya konsentrasi serbuk daun kelor yang diberikan.

Es krim daun kelor memiliki bau yang dipengaruhi oleh bau langu yang khas dan tajam yang berasal dari minyak atsiri dan enzim lipoksidase yang terkandung dalam daun kelor.⁴ Pada es krim tanpa penambahan serbuk daun kelor memiliki bau khas susu sedangkan pada konsentrasi 5% bau khas daun kelor tertutup oleh bau khas susu. Sementara pada konsentrasi 10% dan 15% bau khas susu tertutup oleh bau khas kelor.

Rasa manis berasal dari gula pada formulasi sediaan es krim dimana pada konsentrasi 5% rasa khas daun kelor tertutup oleh rasa manis dari gula dan semakin besar konsentrasi serbuk daun kelor maka rasa manis pada es krim akan tertutup oleh rasa khas dari daun kelor. Rasa khas disebabkan karena daun kelor mengandung tanin sehingga menghasilkan rasa pahit. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yulianti, dimana rasa getir pada minuman jeli daun kelor dengan dua dan tiga kali ulangan ekstraksi berasal dari tanin.¹³

Uji fisik adalah metode pengujian untuk mengamati warna, bau, rasa, dan tekstur suatu produk makanan dan minuman dengan menggunakan panca indera manusia. Bau dan rasa adalah uji fisik yang dilakukan sesuai dengan SNI es krim tahun 2018. Indikator yang digunakan

pada uji fisik yaitu ada tidaknya bau dan rasa asing pada es krim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat formulasi es krim daun kelor tidak memiliki bau dan rasa yang asing. Formulasi I dengan konsentrasi 0% memiliki bau khas susu dan memiliki rasa yang manis, sedangkan dengan penambahan serbuk daun kelor, semakin tinggi konsentrasinya maka bau khas susu semakin memudar tertutup oleh bau khas daun kelor dan rasa es krim sedikit pahit.

Tabel 2. Hasil organoleptik es krim daun kelor

Sampel	Warna	Bau	Rasa	Tekstur
0%	Putih	Khas susu	Manis	Padat
5%	Hijau	Khas susu	Manis	Padat
10%	Hijau	Khas kelor	Manis, sedikit pahit	Padat
15%	Hijau kecoklatan	Khas kelor	Sedikit pahit	Padat

Tabel 3. Hasil uji fisik es krim daun kelor

No	Sampel	Bau	Rasa
1	0%	Normal	Normal
2	5%	Normal	Normal
3	10%	Normal	Normal
4	15%	Normal	Normal

Ket: Tidak ada bau/rasa asing = "normal", Ada bau/rasa asing = "tidak normal".

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persen inhibisi yang diperoleh akan semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi serbuk daun kelor yang diberikan. Persen inhibisi terbesar yang diperoleh yaitu 30,50% pada serbuk daun kelor 150 mg dan 49,74% pada es krim dengan konsentrasi serbuk daun kelor sebesar 15%.

Persen inhibisi yang diperoleh menunjukkan semakin besar konsentrasi serbuk daun kelor yang diberikan, maka kemampuannya dalam menghambat

aktivitas radikal bebas semakin meningkat. Persen inhibisi pada es krim dengan konsentrasi 0% menunjukkan bahwa basis es krim tidak dapat menghambat aktivitas radikal bebas.

Hasil penelitian menunjukkan persen inhibisi sediaan es krim daun kelor lebih besar dari serbuk daun kelor. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan intensitas warna, dimana pada larutan es krim memiliki warna hijau yang lebih muda dari pada larutan serbuk daun kelor. Untuk menentukan aktivitas antioksidan, sampel yang digunakan harus bening atau tidak berwarna, jika suatu sampel tidak bening atau berwarna maka berpotensi mempengaruhi aktivitas antioksidan yang diperoleh.¹⁴

Lama ekstraksi juga dapat mempengaruhi persen inhibisi. Serbuk daun kelor lebih lama terekstraksi dengan basis es krim daripada serbuk daun kelor dengan pelarut etanol 96%. Koesnadi EA, dkk, (2021), dalam penelitiannya diperoleh bahwa lama ekstraksi berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun rambusa.¹⁵

Tabel 4. Aktivitas antioksidan daun kelor

Sampel	Absorbansi	% Inhibisi	Aktivitas Antioksidan
DPPH	0,8145	-	-
Serbuk 50 mg	0,6901	15,27	Rendah
Serbuk 100 mg	0,6276	22,95	Sedang
Serbuk 150 mg	0,5661	30,50	Sedang

Ket: Tinggi (> 50%), sedang (20%-50%), rendah (< 20%)

Wulansari dan Chairul menggolongkan aktivitas antioksidan menjadi tinggi jika persen inhibisinya melebihi 50%, 20-50% tergolong sedang, dan dibawah 20% tergolong rendah.¹⁶ Pada penelitian ini menunjukkan aktivitas antioksidan serbuk daun kelor 50 mg dan sediaan es krim 5% tergolong lemah, sedangkan aktivitas antioksidan serbuk daun kelor 100 mg dan 150 mg serta sediaan es krim 10% dan

15% tergolong sedang. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan serbuk daun kelor tidak mengalami perubahan setelah dibuat menjadi sediaan nutrasetikal es krim daun kelor.

Tabel 5. Aktivitas antioksidan es krim Daun kelor

Sampel	Absorbansi	% Inhibisi	Aktivitas Antioksidan
DPPH	0,8145	-	-
Basis	0,8517	0	Rendah
Es krim 5%	0,6782	16,73	Rendah
Es krim 10%	0,5312	34,78	Sedang
Es krim 15%	0,4094	49,74	Sedang

Ket: Tinggi (> 50%), sedang (20%-50%), rendah (< 20%)



Gambar 1. Es krim daun kelor (*Moringa oleifera* L.)

KESIMPULAN

Serbuk daun kelor dapat diformulasikan sebagai sediaan nutrasetikal es krim. Aktivitas antioksidan serbuk daun kelor 50 mg dan es krim 5% tergolong lemah, serbuk daun kelor 100 mg dan 150 mg serta es krim 10% dan 15% tergolong sedang. Penelitian ini menunjukkan aktivitas antioksidan serbuk daun kelor tidak mengalami perubahan setelah diformulasi menjadi produk sediaan nutrasetikal es krim daun kelor.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk menentukan cemaran mikrobiologi dan uji hedonik serta perlu menggunakan variasi metode ekstraksi yang berbeda agar diperoleh aktivitas antioksidan yang lebih akurat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dosen, Laboran dan seluruh Staf Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar atas segala bantuan teknis yang telah diberikan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Nengah I. Substansi nutrasetikal sumber dan manfaat kesehatan. Denpasar: Deepublish; 2020.
2. Simbolan JM dan Katharina N. Cegah malnutrisi dengan kelor. Yogyakarta: Kanisius; 2007.
3. Kasolo JN, Bimeya GS, Ojok L, Ochieng J, Okwal-okeng JW. Phytochemicals and uses of moringa oleifera leaves in ugandan rural communities. Journal of Medical Plant Research. 2010 May;4(9):753-757. doi: 10.5897/JMPR10.492.
4. Krisnadi AD. Kelor super nutrisi. Blora: Kelorina.com; 2012.
5. Sutrisno dan Lisawati. Efek pemberian ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) Meningkatkan apoptosis pada sel epitel kolon tikus (*Rattus norvegicus*) wistar yang diinduksi 7,12 dimetilbenz (α) antrasen (DMBA) [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya; 2011.
6. Djamil AM. Potensi Minuman serbuk daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai sumber antioksidan [Skripsi]. Yogyakarta: UIN Sunan Kalijaga; 2017.
7. Isnindar WS, dan Setyowat EP. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki* Thunb.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Majalah Obat Tradisional. 2011;16(3):157-64.
8. Werdhasari A. Peran antioksidan bagi kesehatan. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia. 2014;3(2):59-68.
9. Iskandar AB. Analisis Kadar protein, kalsium dan daya terima es krim dengan

- penambahan tepung daun kelor (*Moringa oleifera*) [Skripsi]. Jember: Universitas Jember; 2018.
10. Indonesia. Badan Standarisasi Nasional. Es Krim. Jakarta: Standar Nasional Indonesia; 2018.
 11. Adimidjaja LF, dan Pulu H. Lima belas resep es krim favorit. Jakarta: PT Gaya Favorit Press; 2011.
 12. Yulianti R. Pembuatan minuman jeli daun kelor (*Moringa oleifera* L.) sebagai sumber vitamin C dan beta karoten [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2008.
 13. Triastini MC. Uji Aktivitas antioksidan dan kesukaan panelis terhadap es krim sari serai (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma; 2018.
 14. Koesnadi EA, I Nengah KP, AAI Sri W. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) menggunakan metode microwave assisted extraction (MAE). Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA). 2021;10(3):357-66.
 15. Wulansari, dan Chairul. Penapisan aktivitas antioksidan dan beberapa tumbuhan obat indonesia menggunakan radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Majalah Obat Tradisional. 2011;16(1):22-5.